



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

KADAR INTERERON GAMMA PADA ANAK YANG MENDAPAT VAKSINASI ACG

TEISIS




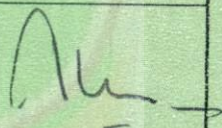

LIZA FITRIA
0821212040

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
PROGRAM PASCASARJANA BIOMEDIK
UNIVERSITAS ANDALAS
2013

**TESIS INI TELAH DIAJUKAN DAN DIPERTAHANKAN DI DEPAN TIM
PENGUJI YANG DILAKSANAKAN OLEH BAGIAN ILMU KESEHATAN
ANAK DAN PROGRAM DOUBLE DEGREE BIOMEDIK FAKULTAS
KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS/**

RS. DR. M. DJAMIL PADANG

PADA TANGGAL 11 JUNI 2013

NO	NAMA	JABATAN	TANDA TANGAN
1	Prof. dr. DARFIOES BASIR, SpA(K)	KETUA	
2	Prof. dr. FADIL OENZIL, PhD., SpGK	ANGGOTA	
3	Dr. GUSTINA LUBIS, SpA(K)	ANGGOTA	

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis yang saya tulis dengan judul:

KADAR INTERFERON GAMMA PADA ANAK YANG MENDAPAT VAKSINASI BCG

Adalah kerja/ karya saya sendiri dan bukan merupakan jiplakan hasil kerja/ karya orang lain kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika kemudian hari pernyataan ini tidak benar (berupa jiplakan), maka status kelulusan dan gelar yang saya peroleh menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, Juni 2013

Dr. Liza Fitria

RIWAYAT HIDUP

Liza Fitria dilahirkan di Bukittinggi pada tanggal 10 Maret 1981 dari pasangan Dasril (Ayah) dan Asni (Ibu) yang berasal dari Agam. Merupakan anak ke-3 dari 3 bersaudara, Reffinaldi, SS, Hendri Naldi, AMd. Liza Fitria memiliki suami yang bernama Toton Rasyid, SH. MH serta dua orang anak bernama Naura Athirah dan Muhammad Raziq.

Liza Fitria telah bersekolah di SD Negeri 07 Birugo Bukittinggi, SMP Negeri 1 Bukittinggi dan SMA Negeri 2 Bukittinggi. Pendidikan dokter umum diselesaikan tahun 2005 di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Setelah lulus sempat bekerja sebagai Dokter PNS RS. Dr. Achmad Muchtar Bukittinggi sebelum akhirnya mengikuti Program Double Degree Pendidikan Dokter Spesialis Anak dan Pascasarjana Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmat dan karunia-Nya tesis yang berjudul “Kadar interferon gamma pada anak yang mendapat vaksinasi BCG” dapat diselesaikan, merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis Anak dan Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

Shalawat dan salam kehadiran Nabi Muhammad SAW, melalui beliau lah ilmu dari Allah dapat sampai kepada umat manusia dan berkat perjuangan beliau kita dapat berada pada masa yang penuh dengan ilmu pengetahuan ini.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Prof. Dr. Darfioes Basir, SpA(K), Dr. Finny Fitry Yani, SpA(K) dan Dr. Andani Eka Putra, MSc yang telah banyak memberikan bimbingan, bantuan dan dorongan dalam penyelesaian tesis ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan pada tesis ini oleh karena itu sumbang saran amat diharapkan demi kesempurnaan penulisan tesis ini. Semoga Allah memberkati kita semua. Amin.

Padang, Juni 2013

Penulis

PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK

Tesis 11 Juni 2013

Liza Fitria

KADAR INTERFERON GAMMA PADA ANAK YANG MENDAPAT VAKSINASI BCG

Liza Fitria, Andani Eka Putra, Finny Fitry Yani, Darfioes Basir

ABSTRAK

Latar Belakang : Vaksinasi BCG mempunyai efek proteksi yang bervariasi. Penelitian sebelumnya menunjukkan efek proteksi BCG menurun seiring dengan bertambahnya umur anak dan lamanya proteksi BCG belum diketahui dengan pasti. Seiring dengan perkembangan pengetahuan dibidang biologi molekuler telah dikembangkan pemeriksaan IFN- γ untuk mendeteksi respon vaksinasi.

Tujuan penelitian : Mengetahui lamanya efek proteksi BCG dan hubungan kadar IFN- γ dengan umur, status gizi, umur mendapatkan vaksinasi BCG dan sarana kesehatan tempat vaksinasi.

Metode : Suatu studi *cross sectional* terhadap 160 sampel yang dibagi atas 4 kelompok umur. Pada setiap sampel diambil darah dan dilakukan kultur sel limfosit, dilanjutkan dengan induksi BCG dan ESAT-6. ESAT-6 ditujukan untuk skrining kemungkinan infeksi TB. Kadar IFN- γ yang dihasilkan dari sel limfosit yang diinduksi antigen BCG dan ESAT-6 diperiksa dengan teknik ELISA Sandwich. Status gizi, umur mendapatkan vaksinasi, sarana kesehatan tempat vaksinasi didapatkan dengan wawancara.

Hasil : Dari 160 sampel, 16 sampel diekskusi karena peningkatan IFN- γ kultur sel limfosit yang diinduksi ESAT-6. Kadar IFN- γ tertinggi pada kelompok umur 4-11 bulan (461,9 (SD 169,3) pg/ml), secara statistik terdapat perbedaan bermakna kadar IFN- γ dengan kelompok umur. Terdapat perbedaan bermakna kadar IFN- γ antara kelompok umur 4-11 bulan dengan 1-4 tahun dan 1-4 tahun dengan 5-9 tahun. Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar IFN- γ dengan status gizi, umur mendapatkan vaksinasi dan sarana kesehatan tempat vaksinasi dengan jumlah sampel tiap variabel yang tidak sama banyak.

Kesimpulan : Tingginya kadar IFN- γ menunjukkan vaksinasi BCG yang efektif pada anak, kadar IFN- γ menurun setelah anak berumur 1 tahun.

Kata kunci : Vaksinasi BCG pada anak, umur, IFN- γ .

STUDY PROGRAM OF BIOMEDICINE

Thesis, June 11th, 2013

Liza Fitria

INTERFERON GAMMA LEVELS IN BCG VACCINATED CHILDREN

Liza Fitria, Andani Eka Putra, Finny Fitry Yani, Darfioes Basir

ABSTRACT

Background : BCG vaccine against pulmonary tuberculosis varies widely in different populations. Many studies reveal that efficacy of vaccine wanes with age. The advent of newer tests such as *in vitro* IFN- γ have been done to detect the effect of vaccination

Objective : To determine the duration of BCG vaccine protection effect and the relationship between IFN- γ levels with age, nutritional status, age range for BCG vaccination and health facilities for BCG vaccination.

Method : A cross sectional study to 160 samples, divided into 4 groups. On each sample was taken the blood and had been done the limfosit culture then continued by BCG induction and ESAT-6. ESAT-6 was for scrinning TB infection. IFN- γ levels was examined by ELISA Sandwich tehnikue. Nutritional status, age of vaccination, health facilities of vaccination was confirmed by interview.

Result : Based on 160 samples, 16 samples was excluded because of the increasing of IFN- γ on limfosit cultur which got ESAT-6 induction. The highest IFN- γ levels was 4-11 month age group (461,9 (SD 169,3) pg/ml), there was significant correlation between IFN- γ and age. Statistically, there was a significant correlation of IFN- γ levels between group aged 4-11 month with 1-4 years and group aged 1-4 years with 5-9 years. There was no significant correlation between IFN- γ levels with age, nutritional status, age range for vaccination and health facilities for vaccination with uncomparable sample.

Conclusion : The height of IFN- γ levels showed the effectivity of BCG vaccination, IFN- γ levels decrease after the child 1 year old.

Keywords : BCG vaccination, age, IFN- γ .

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN	i
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan masalah	5
1.3 Hipotesis	6
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Sejarah	8
2.2 Bakteriologi	9
2.3 Vaksinasi BCG	10
2.3.1. Strain BCG dan produksi vaksin	10
2.3.2. Teknik dan prosedur pemberian vaksinasi	11
2.3.3. Kebijakan dan cakupan BCG	13
2.3.4. Respon imunologi	14

2.4 Efektifitas BCG	16
2.5 Immunogenisitas	17
2.6 Respon imun terhadap M. tb	20
2.6.1 Imunitas alami	22
2.6.2 Imunitas adaptif	27
2.7 Pemeriksaan Interferon γ	29
BAB III KERANGKA TEORI DAN KONSEPTUAL	32
BAB IV METODE PENELITIAN	33
4.1 Desain penelitian	33
4.2 Tempat dan waktu penelitian	33
4.3 Populasi penelitian	33
4.4 Sampel dan cara pemelihan sampel	33
4.5 Perkiraan besar sampel	33
4.6 Kriteria inklusi dan eksklusi	34
4.7 Variabel penelitian	35
4.8 Definisi operasional	35
4.9 Alur penelitian	40
4.10 Prosedur kerja	41
4.11 Analisis data	42
4.12 Etika penelitian	42
BAB V HASIL PENELITIAN.....	43
BAB VI PEMBAHASAN	49
BAB VII PENUTUP	56
7.1 Kesimpulan	56
7.2 Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Evolusi perkembangan <i>M. tuberculosis complex</i>	9
Gambar 2.2. Respon kekebalan terhadap BCG.....	13
Gambar 2.3. Pengenalan M.tb oleh makrofag dan peranan TLR.....	22
Gambar 2.4. Perkembangan granuloma sebagai respon seluler terhadap M.tb....	24
Gambar 2.5. Mekanisme kerja sel T CD4 dan CD8 terhadap M.tb.....	26
Gambar 5.1. Perbandingan kadar IFN- γ kultur sel limfosit dengan esat-6 dan BCG sebagai protein induktor.....	42
Gambar 5.2. Perbandingan kadar IFN- γ yang diinduksi dengan BCG berdasarkan waktu paska vaksinasi.....	43
Gambar 5.3. Korelasi antara kadar IFN- γ yang diinduksi BCG dengan umur....	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1. Karakteristik anak yang mendapat vaksinasi BCG scar (+).....	41
Tabel 5.2. Hubungan kadar IFN- γ dengan umur	43
Tabel 5.3. Hasil uji korelasi antara kadar IFN- γ yang diinduksi BCG dengan umur.....	44
Tabel 5.4. Hubungan kadar IFN- γ dengan status gizi.....	45
Tabel 5.5. Hubungan kadar IFN- γ dengan umur mendapatkan vaksinasi BCG...	46
Tabel 5.6. Hubungan kadar IFN- γ dengan sarana kesehatan tempat mendapatkan vaksinasi.....	46

DAFTAR SINGKATAN



BCG	: Bacille Calmette Guerin
CFP-10	: Cultur Filtrate Protein-10
CD	: Cluster of Differentiation
CMI	: Cellular Mediated Immunity
ELISA	: Enzyme Linked Immunsorbent Assay
ESAT-6	: Early Secretory Antigenic Target
IFN- γ	: Interferon-Gamma
IGRA	: Interferon Gamma Release Assay
IDAI	: Ikatan Dokter Anak Indonesia
MHC	: Mayor Histocompatibility Complex
M.tb	: Mycobacterium tuberculosis
NTM	: Non Tuberculosis Mycobacterium
PBMCs	: Peripheral Blood Mononuclear Cells
PPD	: Purified Protein Derivate
RD1	: Region of Difference 1
ROI	: Reactive Oxygen Intermediates
RNI	: Reactive Nitrogen Intermediates
TB	: Tuberculosis
Th	: T helper
TLR	: Toll Like Receptor
TNF	: Tumor Necrosis Factor
TST	: Tuberculin Skin Test
WHO	: World Health Organization

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Vaksin *Bacille Calmette-Guerin* (BCG) mulai dikembangkan tahun 1906 oleh Albert Calmette dan Camilla Guerin yang mengandung *Mycobacterium bovis* yang dilemahkan. Vaksin ini sudah digunakan sejak tahun 1921 berkaitan dengan program pencegahan terhadap Tuberculosis (TB) yang disebabkan *Mycobacterium Tuberculosis* (M.tb) (Barreto *et al*, 2006). BCG mempunyai efek proteksi yang sangat bervariasi 0 – 80%, sehingga TB masih merupakan masalah kesehatan masyarakat yang utama di seluruh dunia. Sepertiga penduduk dunia diperkirakan akan terinfeksi M.tb, sekitar 9 juta orang per tahun dan 1,2-1,5 juta orang meninggal karena TB. Kasus TB pada anak diperkirakan 1 juta (11%) kasus. Pada negara seluruh dunia, persentase kasus TB pada anak bervariasi 3% hingga lebih 25% (Barreto *et al.*, 2006; WHO, 2006; WHO, 2011).

TB merupakan penyebab kematian kedua terbanyak di dunia. India, Cina dan Indonesia berkontribusi lebih dari 50% kasus TB. Indonesia negara ke empat insiden tertinggi TB di dunia.³ TB anak merupakan faktor penting di negara berkembang, karena jumlah anak berusia < 15 tahun adalah 40-50% jumlah seluruh populasi (Donald PR, 2004)

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa BCG hanya mampu mencegah sakit berat, seperti kasus TB milier atau meningitis TB, namun tidak dapat

mencegah perkembangan fase laten atau reaktivasi. Efek proteksi terhadap Tuberkulosis berat ini diduga lebih banyak berkaitan dengan efek imunomodulator vaksin ini dibanding efek proteksi spesifik terhadap Tuberkulosis (Doherti & Andersen, 2005; Murray *et al.*, 2006; Brennan, 2005; Gray, 2004). Efek proteksi BCG timbul 8-12 minggu setelah vaksinasi. Lamanya proteksi BCG juga belum diketahui dengan pasti (Said & Boediman, 2008). Sterne dkk (1998), menemukan bahwa efektifitas BCG menurun seiring dengan berjalannya waktu setelah vaksinasi (Sterne *et al.*, 1998). Hasil penelitian Anuradha dkk (2007), berdasarkan pemeriksaan Interferon gamma (IFN- γ) sel limfosit T secara *in vitro*, mengungkapkan bahwa efek BCG menurun dengan bertambahnya usia (Anuradha *et al.*, 2007). Penulis lain tidak menemukan bahwa BCG dapat memberikan perlindungan setelah lebih 10 tahun sejak vaksinasi (Sterne *et al.*, 1998; Britton & Palendira, 2003). Lebih 50% bayi yang mendapat BCG saat lahir tidak reaktif lagi terhadap uji tuberkulin saat berumur 9-12 bulan dan negatif setelah berumur 5 tahun (Starke & Smith, 2004).

Negara dengan angka kejadian TB yang rendah memusatkan perhatian pada identifikasi dan pengobatan individu yang terinfeksi untuk mencegah bertambahnya kasus baru. Pada beberapa negara seperti USA, Netherland dan Swedia penggunaan vaksin BCG telah dihentikan untuk mempertahankan nilai diagnostik *purified protein derivative* (PPD) sebagai indikator terinfeksi M.tb. Negara lain, seperti Brazil, vaksin BCG diberikan segera setelah anak lahir. (Barreto *et al.*, 2006)

Di Indonesia pemberian vaksin BCG pada anak sudah merupakan suatu program kesehatan pemerintah, sesuai dengan rekomendasi WHO, menganut pemberian BCG segera setelah lahir (Sterne *et al.*, 1998). Respon kekebalan adaptif telah terbentuk setelah pemberian vaksin BCG. Respon imun ini terjadi akibat sifat khas bakteri intraseluler yaitu mengekspresikan lipopolisakarida (LPS), sehingga mampu bertahan terhadap proses fagositosis, akibatnya bakteri mampu bertahan dalam waktu yang lama dan menimbulkan stimulasi antigen yang kronis (Starke & Munoz, 2007).

Faktor-faktor yang dianggap penting dalam mempengaruhi efektifitas BCG adalah usia saat pemberian imunisasi, paparan lingkungan, efektifitas vaksin BCG, termasuk kualitas vaksin, genetika dan nutrisi host serta cara pemberian (Health protection surveillance centers, 2010). Syarat-syarat penyimpanan dan transportasi vaksin untuk menjamin potensinya sebelum diberikan kepada anak harus diperhatikan. Bila syarat tersebut tidak diperhatikan maka vaksin sebagai material biologis mudah rusak atau kehilangan potensinya untuk merangsang kekebalan tubuh, sehingga diperlukan pemahaman mengenai ketahanan vaksin terhadap perbedaan suhu dan pemahaman rantai vaksin (*cold-chain*) agar sejak dari pabrik sampai saat diberikan kepada pasien tetap terjamin kualitasnya. Penyimpanan vaksin BCG dalam jumlah besar di pabrik, distributor pusat, Departemen Kesehatan atau Dinas Kesehatan Propinsi berupa kamar dingin (*cold room*) dengan suhu kamar berkisar $+2^{\circ}\text{C}$ sampai $+8^{\circ}\text{C}$. Untuk membawa vaksin dalam jumlah sedikit dan jarak tidak terlalu jauh dapat menggunakan kotak dingin (*cold box*) atau vaccine carrier (termos). Penyimpanan vaksin didalam lemari es

juga harus diperhatikan, vaksin hidup diletakkan dekat dengan bagian yang paling dingin, aliran listrik tidak boleh terputus dan pintu lemari es hanya dibuka dua kali sehari (Rahajoe, 2008).

Penelitian meta-analisis menunjukkan tingkat perlindungan BCG terhadap tuberkulosis paru sebesar 86% pada percobaan acak dan 75% pada studi kasus kontrol dan memperkirakan keefektifan BCG dalam mencegah TB paru sekitar 50% (Barreto *et al.*, 2006; Ellner, 2000). Berkurangnya pengaruh BCG juga dilaporkan oleh peneliti lain, tetapi hasilnya sebagian besar didasarkan pada uji tuberkulin (Britton & Palendira, 2003). Meskipun uji tuberkulin telah terbukti berguna dalam praktek klinis, ia memiliki beberapa keterbatasan utama. Uji tuberkulin bukan indikator ideal status vaksinasi BCG. Tes baru seperti uji IFN- γ in vitro dan identifikasi protein mikobakteri imunogenik yang kuat, perlu untuk menguatkan pengamatan sebelumnya (Sterne *et al.*, 1998).

IFN- γ merupakan sitokin yang menginduksi aktivasi makrofag, telah didemonstrasikan pada tikus percobaan mempunyai peran sangat penting untuk perlindungan terhadap M.tb. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sitokin ini memiliki peran penting dalam melindungi manusia terhadap penyakit yang disebabkan *Mycobacterium*. Tes darah dapat digunakan untuk mengukur produksi IFN- γ sebagai respons terhadap *Mycobacterium* (Black *et al.*, 2002). Produksi IFN- γ menunjukkan aktivasi sistem imun seluler, serupa dengan konsep uji tuberkulin. IFN- γ merupakan faktor imunoregulator penting yang mempunyai efek multipel terhadap perkembangan, kematangan dan fungsi sistem imun (Subagyo *et al.*, 2006). *Interferon Gamma Release Assay* (IGRAs) telah menghasilkan

dikembangkan untuk mendeteksi infeksi M. tb dan telah dipergunakan secara luas karena sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi dibandingkan uji tuberkulin. IGRAs menggunakan antigen spesifik sel T yaitu *early secretory antigenic target* (ESAT-6) dan *cultur filtrate protein-10* (CFP-10) yang ditemukan pada M. tb. Ada dua IGRAs yang tersedia secara komersial dan berlisensi untuk digunakan yaitu : T-SPOT.TB dan Quantiferon-TB. Quantiferon-TB mengukur jumlah IFN- γ dengan *Enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) yang dinyatakan dalam pg/ml atau IU/ml. T-SPOT.TB menghitung jumlah IFN- γ *secreting T-cell* berupa titik-titik (*Spot forming cells*) (Zhang *et al*, 2010).

Peningkatan IFN- γ sebagai respon terhadap BCG berkorelasi baik dengan tingkat perlindungan oleh vaksinasi BCG (Black *et al*, 2002) Berdasarkan hal tersebut, penulis mencoba melihat sejauh mana kadar IFN- γ bertahan pada anak yang mendapat vaksinasi BCG.

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan pertanyaan sebagai berikut :

1. Berapakah kadar IFN- γ pada anak yang telah mendapat vaksinasi BCG ?
2. Apakah terjadi penurunan kadar IFN- γ seiring dengan pertambahan umur anak setelah vaksinasi BCG ?
3. Apakah ada hubungan kadar IFN- γ dengan status gizi anak yang mendapat vaksinasi BCG ?

4. Apakah ada hubungan kadar IFN- γ anak setelah vaksinasi BCG dengan umur mendapatkan vaksinasi ?
5. Apakah ada hubungan kadar IFN- γ anak setelah vaksinasi BCG dengan sarana kesehatan tempat mendapatkan vaksinasi ?

I.3. Hipotesis

Terdapat penurunan kadar IFN- γ setelah vaksinasi BCG seiring dengan penambahan umur anak.

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Mengetahui kadar IFN- γ anak yang mendapat vaksinasi BCG.

1.4.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui hubungan kadar IFN- γ anak setelah vaksinasi BCG dengan umur.
2. Mengetahui hubungan kadar IFN- γ anak setelah vaksinasi BCG dengan status gizi.
3. Mengetahui hubungan kadar IFN- γ anak setelah vaksinasi BCG dengan umur mendapatkan vaksinasi.
4. Mengetahui hubungan kadar IFN- γ anak setelah vaksinasi BCG dengan sarana kesehatan tempat mendapatkan vaksinasi.

I.5 Manfaat Penelitian

Sebagai masukan dalam mengambil kebijakan vaksinasi BCG tentang perlunya pemberian *booster* BCG.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sejarah

BCG merupakan vaksin yang umum digunakan untuk mencegah TB, mulai dikembangkan pada tahun 1906 oleh Albert Calmette dan Camilla Guérin. Vaksin ini dibuat dari *Mycobacterium Bovis* yang dilemahkan dan pertama kali diberikan secara oral pada tahun 1921 pada bayi yang baru lahir dengan ibu yang meninggal akibat TB paru. WHO merekomendasikan pemberian vaksin BCG saat lahir atau beberapa saat setelah lahir untuk mencegah penyakit TB, dalam perkembangannya vaksin ini mampu melindungi bayi hingga dewasa. Pada tahun 2002, imunisasi BCG telah dilakukan lebih 90% negara di dunia. Diperkirakan 100.5 juta anak (76%) dari total 132.8 juta anak telah mendapatkan imunisasi BCG (Doherty & Andersen, 2005; Murray *et al.*, 2006; Brennan, 2005; Gray, 2004).

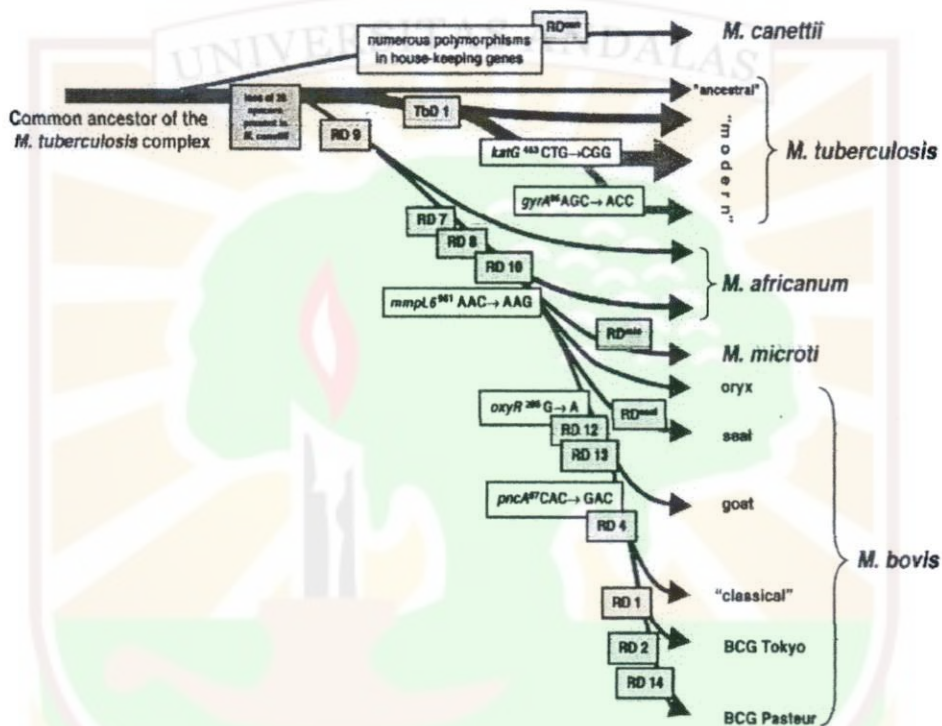
Sebuah penelitian meta analisis telah menunjukkan BCG memberikan perlindungan tinggi terhadap meningitis TB (73%) dan TB milier (77%). Dari 26 penelitian menyebutkan bahwa BCG memberikan efek perlindungan sebesar 50% terhadap TB paru (Trunz *et al.*, 2006; Brewer, 2000). Efek perlindungan lebih besar pada bayi dan anak daripada orang dewasa dan dicatat meningkat pada studi BCG yang diberikan pada bayi segera setelah lahir (Pasteur, 2011). Sebuah penelitian meta analisis juga melaporkan efektifitas BCG menurun 5% sampai 14%

seiring dengan berjalannya waktu sejak vaksinasi (Said & Boediman, 2008). Dua penelitian kasus-kontrol retrospektif mengevaluasi efek perlindungan vaksin BCG pada masyarakat Aborigin Kanada. Dalam satu studi, membandingkan status vaksinasi BCG pada 160 penderita dengan 232 kontrol, efek perlindungan dari vaksinasi BCG adalah 57% (Pasteur, 2011)

2.2 Bakteriologi

Tuberkulosis disebabkan oleh *M.tb*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium microti* dan *Mycobacterium canetti*. *M. tb* merupakan penyebab utama TB pada manusia. *M.tb* berbentuk batang halus dengan panjang sekitar 2-4 μm dan lebar 0.2-0.5 μm , bersifat non-spora, non-motil, pleiomorfik dan merupakan batang gram positif yang tampak berkoloni pada pewarnaan atau media kultur. *M.tb* merupakan bakteri aerob obligat yang tumbuh pada media sintetik yang mengandung gliserol sebagai sumber karbon dan garam ammonium sebagai sumber nitrogennya (media kultur *Loewenstein-Jensen*). *Mycobacterium* ini tumbuh baik pada suhu 37°C-41°C. Dinding sel *Mycobacterium* mengandung banyak lemak seperti lemak kompleks, asam mycolic dan lilin sehingga dinding selnya lebih tebal dibandingkan bakteri lainnya. Struktur dinding sel yang tidak biasa ini menyebabkan bakteri tahan asam, basa, dehidrasi dan antibiotik. Dinding sel ini membantu bakteri patogen bertahan didalam makrofag. Waktu pertumbuhan *M.tb* lambat dengan waktu pembelahan 12-24 jam secara in vitro maupun in vivo. Identifikasi koloni bakteri pada media baru tampak setelah 4-6 minggu (Starke & Munoz, 2007; Pasteur, 2011).

M. tuberculosis kompleks dalam perjalanannya telah mengalami evolusi, lokus *region of difference 1* (RD1) yang memuat gene ESAT-6 telah mengalami delesi pada *M. bovis* strain BCG seperti terlihat pada gambar 2.1 (Brosch *et al*, 2002)



Gambar 2.1. Evolusi perkembangan *M. tuberculosis* kompleks. Terlihat RD1 dimiliki oleh *M. tuberculosis* complex

2.3 Vaksinasi BCG

2.3.1 Strain BCG dan produksi vaksin

Strain BCG yang digunakan saat ini adalah turunan dari strain BCG asli yang diproduksi oleh Calmette dan Guérin pada tahun 1921. Strain asli dikirim ke

laboratorium di seluruh dunia. Hal ini berlangsung sekitar 40 tahun dan menyebabkan berbagai strain baru dari BCG, sampai akhirnya, perubahan dapat dicegah pada tahun 1960 oleh kombinasi metode beku-kering (Fjallbrant, 2008) Sub-strain kemudian mengalami mutasi spontan sedemikian rupa dimana terdapat perbedaan sifat makroskopik strain pada laboratorium yang berbeda. Delapan mutasi telah diidentifikasi dan terdapat dalam berbagai derajat sub-strain yang digunakan saat ini. Tiap Sub-strain berbeda dalam imunogenisitas pada binatang coba, tetapi apakah salah satu sub strain lebih unggul dalam melindungi manusia masih belum ditentukan (Behr, 2002) Namun, perbedaan antara sub-strain telah diteliti serta insiden efek sampingnya. Perbedaan lain antara sub-strain adalah kemampuan untuk menginduksi *delayed-type hypersensitivity* (DTH) (Fjallbrant, 2008).

2.3.2 Teknik dan prosedur pemberian vaksinasi

BCG pertama kali diberikan secara oral, tetapi rute pemberian ini membutuhkan dosis besar. Dalam perkembangannya, pemberian vaksinasi dilakukan secara intrakutan dengan dosis 0.05 ml, karena dianggap lebih imunogenik, berkaitan dengan keberadaan *Antigen Presenting Cells* (APCs) di daerah intrakutan dan lebih mudah dikontrol dibandingkan pemberian oral yang sering dipengaruhi oleh keasaman lambung. Sedangkan upaya pemberian secara subkutan berisiko tinggi untuk menjadi abses. (Mittrucker HW *et.al.* 2007; Martin C, 2005). Rute intrakutan yang diperkenalkan oleh Arvid Wallgren di Göteborg akhirnya menjadi metode pemberian yang paling umum. Tempat injeksi yang direkomendasikan adalah daerah deltoideus. (WHO, 2004). Terbentuknya gelembung pucat

merupakan tanda injeksi yang benar. Pemberian vaksin sebanyak 0,05 ml pada bayi dan 0,1 ml pada anak dan dewasa (Said M, Boediman *et al*, 2008; Fjallbrant H, 2008). Vaksin BCG harus disimpan pada suhu 2-8°C, tidak boleh beku dan tidak boleh terkena sinar matahari. Setelah dibuka, botol BCG tidak boleh disimpan lebih dari 4 jam karena adanya kemungkinan kontaminasi dan berkurangnya potensi (Said M, Boediman *et al*, 2008; Rahajoe NN *et al*, 2007).

Vaksinasi BCG sebaiknya diberikan pada usia kurang dari 2 bulan. Agar cakupan imunisasi lebih luas, pada jadwal Pogram Pengembangan Imunisasi (PPI) BCG dapat diberikan 0-12 bulan. Pada neonatal sampai bayi berusia kurang 3 bulan, karena belum mengalami paparan lama terhadap penyakit, pemberian BCG tidak perlu didahului oleh uji tuberkulin. Sebaliknya, pada usia lebih dari 3 bulan, sebaiknya dilakukan uji tuberkulin terlebih dahulu. Hal ini dimaksudkan untuk mengurangi komplikasi yang terjadi akibat pemberian BCG, akibat telah adanya imunitas terhadap antigen *Mycobacterium* (Said M, Boediman *et al*, 2008; Rahajoe NN *et al*, 2008).

Untuk mencegah efek samping vaksin BCG, WHO menetapkan sejumlah kontraindikasi pemberian vaksin BCG, antara lain individu dengan gangguan imunitas (akibat pemberian kortikosteroid dan obat-obat imunosupresi lainnya), keganasan, gangguan mekanisme imunologis (akibat *Human Immunodeficiency Virus* atau *hipogamaglobulinemia*), test tuberkulin positif, demam atau impetigo yang luas (WHO, 2005).

2.3.3 Kebijakan dan cakupan BCG

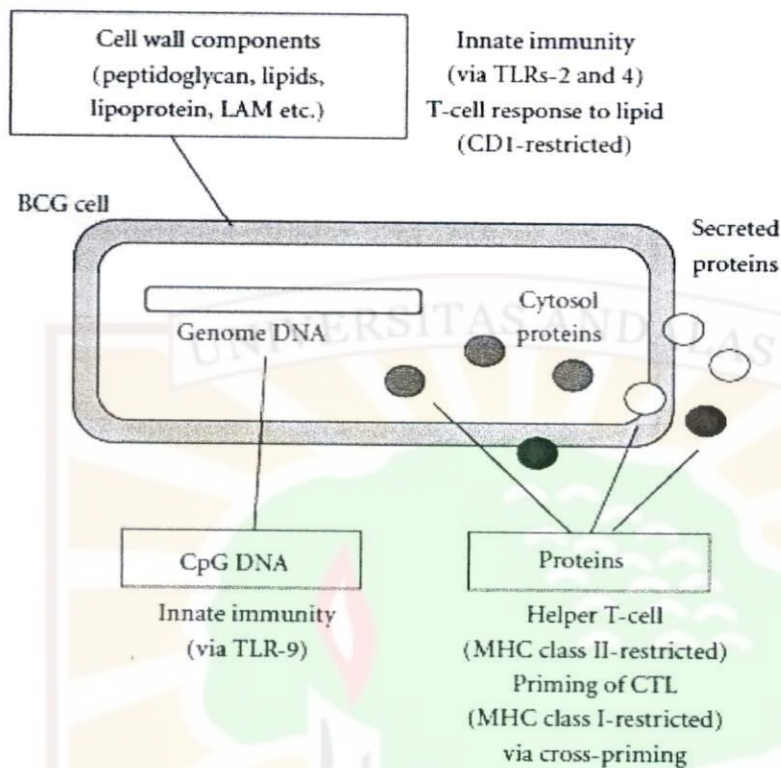
Pemberian BCG secara masal dilakukan di Eropa pada tahun 1940-an, sasarannya bayi dan anak usia sekolah dengan uji tuberkulin negatif. Kemudian dilakukan kampanye vaksinasi pada anak di seluruh dunia yang diikuti oleh vaksinasi rutin anak pada hampir semua Negara (Fjallbrant H, 2008).

Saat ini WHO merekomendasikan vaksinasi BCG pada neonatus di negara dengan prevalensi TB yang tinggi (WHO, 2004). Vaksinasi BCG juga dianjurkan untuk anak risiko tinggi terhadap paparan TB di negara endemik rendah dan untuk mereka yang berkontak dengan pasien *Multi Drug Resistance* TB. Akibatnya, BCG merupakan salah satu vaksin yang paling banyak digunakan di dunia. Cakupan seluruh dunia diperkirakan lebih dari 100 juta dosis per tahun, setelah dilakukan vaksinasi pada 76% dari semua anak yang lahir pada tahun 2002 (Trunz BB *et al*, 2006).

Sebagian besar negara di dunia mengikuti rekomendasi WHO memberikan dosis tunggal BCG segera setelah lahir. Namun, banyak negara telah mengembangkan kebijakan mereka sendiri, seperti memberikan BCG untuk anak-anak yang lebih tua, hanya menargetkan pada kelompok risiko tinggi, memberikan vaksinasi berulang, atau tidak memberikan vaksinasi BCG (Trunz BB *et al*, 2006; Infuso A & Falzon D 2005). Indonesia sebagai negara berkembang dengan insiden TB yang cukup tinggi mewajibkan pemberian vaksinasi BCG pada bayi, hingga saat ini BCG masih merupakan vaksin yang efektif dan aman diberikan (Rahajoe NN *et al*, 2008).

2.3.4 Respon imunologi

Respon imun oleh BCG dijelaskan pada gambar 2.2. Respon yang paling khas adalah induksi respon imun non spesifik (*innate*) oleh komponen dinding sel melalui *toll-like receptors* (TLRs) 2 dan 4 pada sel dendritik dan makrofag. Setelah fagositosis, BCG terdegradasi oleh enzim lisosom dan pemrosesan antigen dipresentasikan pada sistem imun host. Fragmen DNA yang mengandung motif CpG dapat mengaktifkan *innate immunity* melalui TLR 9. Lipid seperti asam mycolic dipresentasikan oleh CD1 merangsang CD1 dalam merestriksi sel T CD8. Protein antigen seperti antigen kompleks 85 yang dihasilkan oleh BCG menginduksi respon *T helper 1* (Th 1) melalui presentasi oleh *major histocompatibility complexes* (MHC) kelas II. Jalur ini merupakan jalur utama respon BCG dan sangat diperlukan untuk proteksi terhadap infeksi *M. tb* melalui produksi sitokin protektif IFN- γ . Disisi lain, proses dan presentasi protein antigen melalui MHC kelas I juga ditimbulkan oleh antigen presenting cell (APC) (Matsuo K *et al*, 2011).



Gambar 2.2. Respon kekebalan terhadap BCG. Kekebalan bawaan melalui TLRs dan imunitas antigen-spesifik melalui MHC-atau presentasi CD1, pembatasan induksi antigen terhadap sel T disebabkan oleh komponen sel BCG (Matsuo K *et al*, 2011).

Dalam waktu 8 minggu setelah vaksinasi, respon imun selular terhadap antigen *M.tb* biasanya sudah dapat dideteksi secara *in vivo* dengan uji tuberkulin, maupun metode *in vitro*. Penelitian pada neonatus, remaja dan dewasa menunjukkan bahwa vaksinasi BCG menginduksi respon memori Th1 tipe imun, ditandai oleh produksi IFN- γ dan proliferasi limfosit, serta respon sel T sitotoksik (Hussey *et al*, 2002; Hawkrige A *et al*, 2006).

2.4 Efektifitas BCG

Pemberian vaksinasi telah dilakukan sejak 1921, meskipun demikian, perdebatan mengenai efektifitas BCG dalam memproteksi bayi/anak dari penyakit TB masih terus berlangsung. Temuan yang berbeda dari penelitian mengenai efektifitas BCG diberbagai negara disebabkan banyak faktor anatara lain bias metodologi, strain, jadwal pemberian, paparan M.tb, faktor genetik, dan faktor pejamu (status imun dan nutrisi) (Health Protection Surveillance, 2010; Rahajoe NN *et al*, 2007).

Efek proteksi atau efektifitas BCG bervariasi dari 0-80%.^{1,9,22,32} Penelitian meta-analisis menunjukkan tingkat perlindungan terhadap tuberkulosis paru sebesar 86% pada percobaan acak dan 75% pada studi kasus kontrol dan diperkirakan keefektifan BCG dalam mencegah TB paru sekitar 50%. (Baretto ML *et al*, 2006; Ellner JJ *et.al*, 2000).

Penelitian meta analisis juga telah memperkirakan efikasi BCG. Penelitian ini menyimpulkan bahwa perlindungan sangat tinggi terhadap meningitis TB (73%) dan TB milier (77%). Dari 26 penelitian disimpulkan bahwa BCG memberikan efek perlindungan sebesar 50% terhadap TB paru (Trunz BB *et al*, 2006; Brewer TF, 2000).

Lamanya proteksi BCG juga belum diketahui dengan pasti (Baretto ML, *et al*, 2006). Suatu studi oleh Sterne dkk (1998), menemukan bahwa efektifitas BCG menurun seiring dengan berjalannya waktu sejak vaksinasi, peneliti lain tidak menemukan bahwa BCG dapat memberikan perlindungan setelah lebih dari 10 tahun sejak vaksinasi (Said M. Boediman *et al*, 2008; Sterne JA, 1998). Hasil

penelitian Anuradha dkk (2007), berdasarkan pemeriksaan IFN- γ dari sel T secara in vitro, mengungkapkan bahwa efek dari BCG menurun dengan bertambahnya usia (Anuradha B *et al*, 2007). Lebih dari 50% bayi yang mendapat BCG saat lahir tidak reaktif lagi terhadap uji tuberkulin saat berumur 9-12 bulan dan negatif setelah berumur 5 tahun (Starke JR & Munoz FM, 2007).

2.5. Imunogenisitas

Imunisasi adalah suatu cara untuk meningkatkan kekebalan seseorang secara aktif terhadap suatu antigen, sehingga bila kelak ia terpajan pada antigen yang serupa tidak akan terjadi penyakit. Tujuan imunisasi adalah untuk mencegah terjadinya penyakit tertentu pada seseorang dan menghilangkan penyakit tertentu pada sekelompok masyarakat (populasi) atau bahkan menghilangkan penyakit tertentu di dunia (Matondang CS & Notoatmojo H, 2008).

Pada berapa kali pajanan antigen maka dapat dikenal dua macam respons imun, yaitu respon imun primer dan respon imun sekunder. Respon imun primer adalah respon imun yang terjadi pada pajanan pertama kalinya dengan antigen. Antibodi yang terbentuk pada respon imun primer kebanyakan adalah *immunoglobulin M* (IgM) dengan titer yang lebih rendah dibanding dengan respon imun sekunder, demikian pula afinitasnya. Waktu antara antigen masuk sampai dengan timbul antibodi (*lag phase*) lebih lama bila dibanding dengan respon imun sekunder (Matondang CS & Notoatmojo H, 2008).

Pada respon imun sekunder, antibodi yang dibentuk kebanyakan adalah IgG, dengan titer dan afinitas yang lebih tinggi, serta fase lag lebih pendek dibanding respon imun primer. Hal ini disebabkan oleh sel memori yang terbentuk pada respon imun primer akan cepat mengalami transformasi blast, proliferasi dan diferensiasi menjadi sel plasma yang menghasilkan antibodi. Demikian pula dengan imunitas seluler, sel limfosit T akan lebih cepat mengalami transformasi blast dan berdiferensiasi menjadi sel T aktif sehingga lebih banyak terbentuk sel efektor dan sel memori (Matondang CS & Notoatmojo H, 2008).

Pada imunisasi, respons imun sekunder inilah yang diharapkan akan memberi respon adekuat bila terpajan pada antigen yang serupa kelak. Untuk mendapatkan titer antibodi yang cukup tinggi dan mencapai nilai protektif, sifat respons imun sekunder ini diterapkan dengan memberikan vaksin berulang beberapa kali (Matondang CS & Notoatmojo H, 2008).

Keberhasilan imunisasi tergantung pada beberapa faktor, yaitu status imun pejamu, faktor genetik pejamu serta kualitas dan kuantitas vaksin (Rahajoe NN *et al*, 2008).

a. Status imun pejamu

Terjadinya antibodi spesifik pada pejamu terhadap vaksin yang diberikan akan mempengaruhi keberhasilan vaksinasi. Keberhasilan vaksinasi juga memerlukan maturitas imunologik. Pada neonatus fungsi makrofag masih kurang, terutama fungsi mempresentasikan antigen karena ekspresi MHC masih kurang, selain deformabilitas membran serta respon kemotaktik yang masih kurang. Fungsi sel T regulator relatif lebih menonjol dibandingkan

pada bayi dan anak, karena fungsi imun pada intra uterin lebih ditekankan pada toleransi, dan hal ini masih terlihat pada bayi baru lahir. Vaksinasi pada neonatus akan memberikan hasil yang kurang dibandingkan anak. Maka, apabila imunisasi diberikan sebelum bayi berumur 2 bulan, jangan lupa memberikan imunisasi ulangan (Rahajoe NN *et al*, 2008).

Status imun mempengaruhi pula hasil imunisasi. Individu yang mendapat imunosupresan, menderita defisiensi imun kongenital, atau menderita penyakit yang menimbulkan defisiensi imun sekunder seperti pada penyakit keganasan juga akan mempengaruhi keberhasilan vaksinasi. Defisiensi imun merupakan kontra indikasi pemberian vaksin hidup, karena dapat menimbulkan penyakit pada individu tersebut. Demikian pula vaksinasi pada individu yang menderita penyakit infeksi sistemik seperti campak akan mempengaruhi pula keberhasilan vaksinasi (Rahajoe NN *et al*, 2008).

Keadaan gizi yang buruk akan menurunkan fungsi sel sistem imun seperti makrofag dan limfosit. Imunitas seluler menurun dan imunitas humoral spesifisitasnya rendah. Meskipun kadar globulin gamma normal atau bahkan tinggi, immunoglobulin yang terbentuk tidak dapat mengikat antigen dengan baik karena terdapat kekurangan produksi asam amino yang dibutuhkan untuk sintesis antibodi. Kadar komplemen juga berkurang dan mobilisasi makrofag berkurang, akibatnya respon terhadap vaksin berkurang (Rahajoe NN *et al*, 2008).

b. Faktor genetik pejamu

Interaksi antara sel-sel imun dipengaruhi oleh variabilitas genetik. Secara genetik, respon imun manusia dibagi atas responder baik, cukup dan rendah terhadap antigen tertentu. Ia dapat memberikan respon rendah terhadap antigen tertentu, tetapi terhadap antigen lain dapat lebih tinggi (Rahajoe NN *et al*, 2008).

Faktor genetik dalam respon imun dapat berperan melalui gen yang membentuk kompleks MHC. Komplek MHC berperan dalam presentasi antigen. Sel T *cytotoxic* (Tc) akan mengenal antigen yang berasosiasi dengan molekul MHC kelas I dan sel T *dependent* (Td) serta sel T *helper* (Th) akan mengenal antigen yang berasosiasi dengan molekul MHC kelas II. Jadi respon sel T diawasi secara genetik sehingga dapat dimengerti bahwa akan terdapat potensi variasi respon imun. Pada gen non MHC, secara klinis kita lihat adanya defisiensi respon imun yang berkaitan dengan gen tertentu, misalnya agamaglobulinemia yang terangkai dengan kromosom X yang hanya terdapat pada anak laki-laki atau penyakit alergi yaitu penyakit yang menunjukkan perbedaan responsi imun terhadap antigen tertentu merupakan penyakit yang diturunkan. Faktor-faktor ini menyokong adanya peran genetik dalam respons imun, hanya saja mekanisme yang sebenarnya belum diketahui (Rahajoe NN *et al*, 2008).

c. Kualitas dan kuantitas vaksin

Vaksin adalah mikroorganisme atau toksoid yang diubah sedemikian rupa sehingga patogenisitas atau toksisitasnya hilang tetapi masih tetap

mengandung sifat antigenisitas. Beberapa faktor kualitas dan kuantitas vaksin dapat menentukan keberhasilan vaksinasi, seperti cara pemberian, dosis, frekuensi pemberian, ajuvan yang digunakan dan jenis vaksin.

- Cara pemberian vaksin akan mempengaruhi respon imun yang timbul.

Misalnya vaksin polio oral akan menimbulkan imunitas lokal disamping sistemik, sedangkan vaksin polio parenteral akan memberikan imunitas sistemik saja.

- Dosis vaksin terlalu tinggi atau terlalu rendah mempengaruhi respon imun yang terjadi. Dosis vaksin terlalu tinggi akan menghambat respon imun yang diharapkan, sedang dosis terlalu rendah tidak merangsang sel imunokompeten. Dosis yang tepat dapat diketahui dari hasil uji klinis, karena itu dosis vaksin harus sesuai dengan dosis yang direkomendasikan.

- Frekuensi pemberian mempengaruhi respon imun yang terjadi. Sebagaimana telah kita ketahui, respon imun sekunder menimbulkan sel efektor aktif lebih cepat, lebih tinggi produksinya, dan afinitasnya lebih tinggi. Disamping frekuensi, jarak pemberian akan mempengaruhi respon imun yang terjadi. Bila pemberian vaksin berikutnya diberikan pada saat kadar antibodi spesifik masih tinggi, maka antigen yang masuk segera dinetralkan oleh antibodi spesifik yang masih tinggi tersebut sehingga tidak sempat merangsang sel imunokompeten.

- Ajuvan adalah zat yang secara nonspesifik dapat meningkatkan respon imun terhadap antigen. Ajuvan akan meningkatkan respon imun dengan mempertahankan antigen pada atau dekat dengan tempat suntikan, dan

mengaktivasi sel APC untuk memproses antigen secara efektif dan memproduksi interleukin yang akan mengaktifkan sel imunokompeten lainnya.

- Jenis vaksin, vaksin hidup akan menimbulkan respon imun lebih baik disbanding vaksin mati atau yang diinaktivasi (*killed* atau *inactivated*) atau bagian (komponen) dari mikroorganisme. Rangsangan sel Tc memori membutuhkan suatu sel yang terinfeksi, karena itu dibutuhkan vaksin hidup. Vaksin hidup diperoleh dengan cara atenuasi. Tujuan atenuasi adalah menghasilkan organisme yang hanya dapat menimbulkan penyakit yang sangat ringan. Atenuasi diperoleh dengan memodifikasi kondisi tempat tumbuh mikroorganisme, misalnya suhu yang tinggi atau rendah, kondisi anaerob, atau menambah empedu pada media kultur seperti pembuatan vaksin BCG yang sudah ditanam selama 13 tahun (Rahajoe NN *et al*, 2008).

2.6. Respon imun terhadap M. tb

2.6.1. Imunitas alami

M.tb merupakan salah satu mikroorganisme yang cukup infeksius terhadap manusia ditinjau dari dosis infeksi (1 -10 organisme per aerosol), menginfeksi 1/3 penduduk dunia, infeksi jangka panjang, salah satu penyebab kematian terbanyak akibat infeksi, dan mekanisme patologis yang memungkinkan penyebaran per aerosol. Pada awalnya, M.tb akan menempati 'resting' makrofag, yang memungkinkan bakteri bereplikasi tanpa halangan. Seiring dengan aktivasi

sel T dengan produksi IFN- γ , suatu makrofag aktivator, maka perkembangan M.tb mulai berkurang (Lazaveric V & Flynn JA, 2002).

Saat teraktivasi terjadi perubahan petanda permukaan makrofag berupa peningkatan reseptor MHC klas II, Fc reseptor untuk IgG2b dan lain sebagainya dan mempunyai kemampuan untuk melakukan berbagai fungsi, antara lain : (Menon MPS, 1997).

1. Memediasi reaksi inflamasi dan demam melalui produksi IL-1 (pirogen), Interferon β , leukotrien dan prostaglandin
2. Aktivasi limfosit melalui presentasi antigen
3. Reorganisasi jaringan, melalui produksi angiogenesis faktor, fibrogenesis faktor (Fibronectin) dan Hyaluronidase
4. Kerusakan jaringan, *reactive oxygen intermediates* (ROI), H_2O_2 , acid hidrolase, C3a
5. Microbisidal, melalui aktivitas ROI, *Reactive nitrogen intermediates* (RNI), lisozym, acid hidrolase, protein kationik
6. Tumorisidal melalui produksi TNF dan direct killing

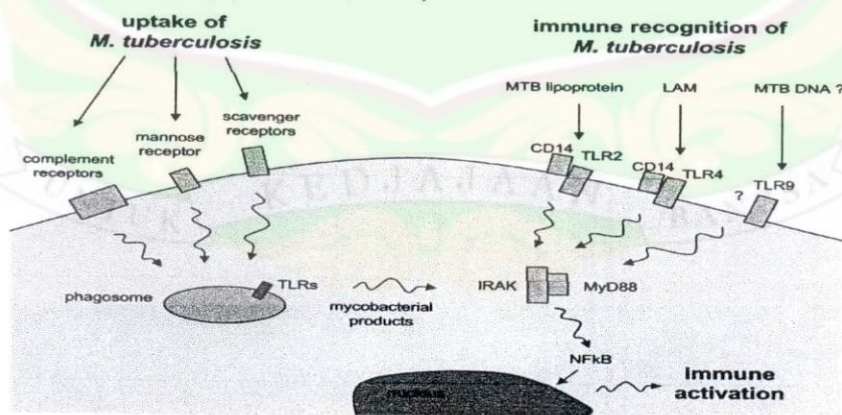
Selanjutnya, berkaitan dengan aktivasi makrofag, terdapat 3 skenario utama yang melibatkan *Janus Tyrosine Kinase* (JAK), *Protein Kinase R* (PKR) dan TLR-2. Model aktivasi tersebut adalah :

1. Ikatan antara IFN- γ dengan IFN- γ R akan menyebabkan signal tranduksi melalui *Janus Tyrosine Kinase* (JAK) yang memfosforilasi reseptor dan menarik aktivator transkripsi (STAT-1) ke reseptor. STAT-1 homodimer

yang terfosforilasi bergerak ke nukleus dan mengaktifasi promotor yang mengandung GAS

2. Supresi beberapa protein melalui *Protein Kinase R* (PKR) yang tergantung pada fosforilasi *Eukariotik Initiation Factor -2*.
3. Peranan TLR-2 yang menarik protein adaptor MyD88 yang berikatan dengan *IL-1 Receptor Associated Kinase* (IRAK) yang menyebabkan kaskade fosforilasi dan berakhir dengan aktivasi NF- κ B. (Collazo EL *et al*, 1998; Ehrt S *et al*, 2001; Mosser DM, 2003).

Fagositosis bakteri diawali dengan kontak bakteri dengan manose makrofag dan/atau reseptor komplemen. Pengenalan *M. tb* oleh makrofag sangat dipengaruhi oleh peranan TLR yang berperan dalam sistem transduksi sinyal di dalam makrofag atau sel APC yang lain. TLR2 akan berikatan dengan lipoarabinoman, TLR6 berikatan dengan lipoprotein 19-kDa, TLR 4 berikatan dengan komponen heat labil dari *M.tb* sedangkan TLR9 diduga berikatan dengan DNA bakteri (gambar 2.3) (Crevel R, 2002).

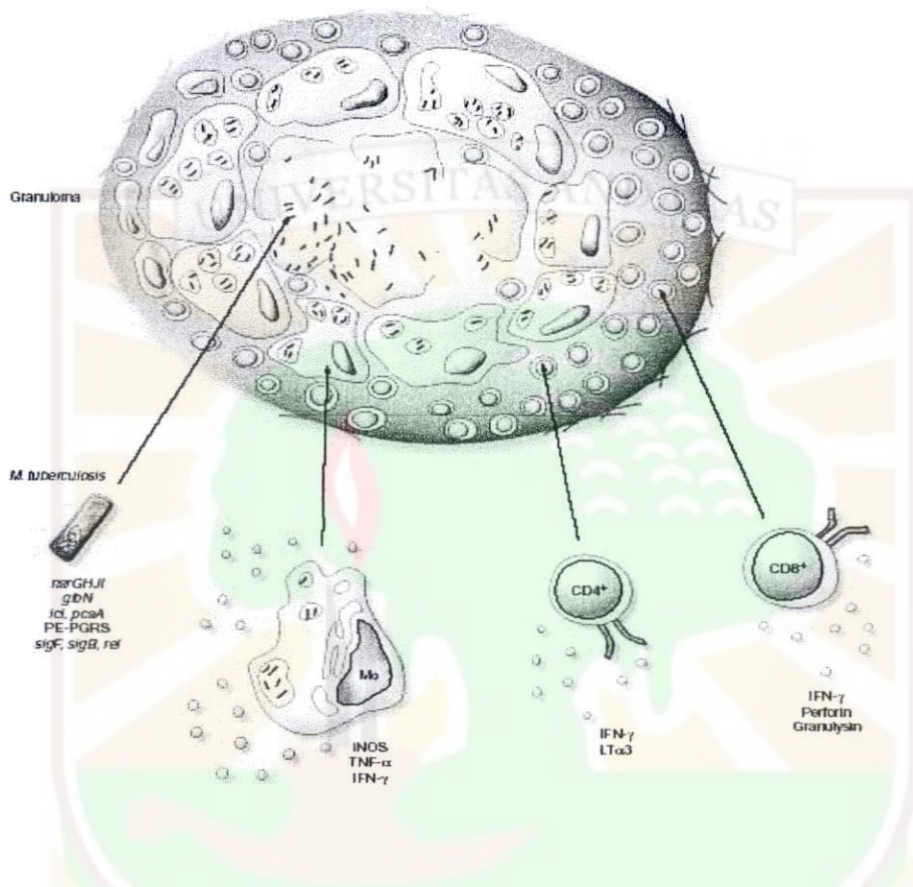


Gambar 2.3. Pengenalan *M.tb* oleh makrofag dan peranan TLR (Crevel R, 2002).

Setelah memasuki makrofag host, *M.tb* akan berada dalam vakuol endositik yang disebut fagosom. Jika terjadi siklus pematangan fagosomal, yaitu fusi fagosom-lisosom, bakteri akan menghadapi lingkungan yang mengancam, seperti pH yang asam, *reactive oxygen intermediates* (ROI), enzim lisosomal, dan peptida yang toksik. *Reactive nitrogen intermediates* (RNIs) merupakan elemen utama dari aktivitas antimikroba. Karena kebanyakan makrofag membunuh bakteri dalam fagolisosom, patogen intraselular mengembangkan banyak jalan untuk mencegah fagolisosom ini. Mikobakterium patogen menghambat fusi fagosom-lisosom dengan mengeluarkan proton ATP-ase dari fagosom *Mycobacterium* (Robinson N *et al*, 2007; Choi HS *et al*, 2002).

Makrofag menginduksi pembentukan granuloma melalui *Tumor necrotic Factor α* (TNF- α) dan menekan aliran kapiler ke sentral granuloma, yang menyebabkan daerah sentral menjadi anoksia, asiditas dan nekrosis, hal ini menyebabkan basil gagal untuk bermultiplikasi. Makrofag paru, melalui produksi kemokin akan menarik monosit, limfosit, dan neutrofil inaktif, tapi tidak ada yang membunuh bakteri dengan sangat efisien. Kemudian akan terbentuk lesi fokal *granulomatous* yang terdiri dari *giant cell* yang berasal dari makrofag dan limfosit. Proses ini secara umum mempunyai arti penting dalam penyebaran bakteri. Sejalan dengan perkembangan respon imun seluler, makrofag yang berisi bakteri akan mati, akan menghasilkan pembentukan pusat *caseous* dari granuloma yang dikelilingi oleh zona seluler yang terdiri dari fibroblas, limfosit, dan monosit (gambar 2.4) (Turner OC *et al*, 2003; Smith I, 2003; Kopydlowski *et al*, 1999).

Berdasarkan kondisi tersebut terlihat bahwa makrofag menjadi sistem efektor utama terhadap infeksi *M.tb* melalui berbagai mekanisme destruksi.



Gambar 2.4. Perkembangan granuloma sebagai respon seluler terhadap *M. Tuberculosis* (Smith I, 2003).

Walapun *M.tb* diperkirakan tidak dapat memperbanyak diri di dalam jaringan kaseosa ini, karena pH-nya yang asam, rendahnya persediaan oksigen, dan adanya asam lemak yang beracun, beberapa organisme dapat hidup *dormant* puluhan tahun. Kekuatan dari respon imun selular akan menentukan apakah infeksi akan menetap pada tahap ini atau berlanjut. Infeksi tertutup ini berhubungan dengan

infeksi TB laten atau persisten yang dapat bertahan sepanjang hidup seseorang tanpa gejala dan tidak menular (Smith I, 2003; Kaufman SHE, 2002).

2.6.2. Imunitas adaptif

Sel T merupakan komponen seluler dari imunitas adaptif yang berperan terhadap infeksi M.tb. Subgrup sel T antara lain, sel T CD4, sel T CD8 dan sel T $\gamma\delta$. Pada penderita dengan defisiensi sel T CD4, misalnya kasus HIV/AIDS, menyebabkan perkembangan bakteri dengan cepat. Sel T CD4 berperan dalam menginduksi aktivasi makrofag dan sel T CD8 (Kaufman SHE, 2002; Cowley SC & Elkins KE, 2003).

Peranan sel T CD4 (gambar 2.5), khususnya sel Th1 adalah melalui mekanisme efektor yang dilakukan oleh IFN- γ . Walaupun IFN- γ dihasilkan oleh seluruh subgrup sel T, namun IFN- γ yang dihasilkan oleh sel Th1 terlihat pada awal proses infeksi. Pada Tuberkulosis, peranan sel T CD4 terlihat lebih dominan dibanding sel T CD8, hal ini terutama berkaitan dengan posisi M.tb yang berada di dalam fagosom yang dipresentasikan oleh MHC klas II (Lazarevic V & Flynn J.A, 2002).

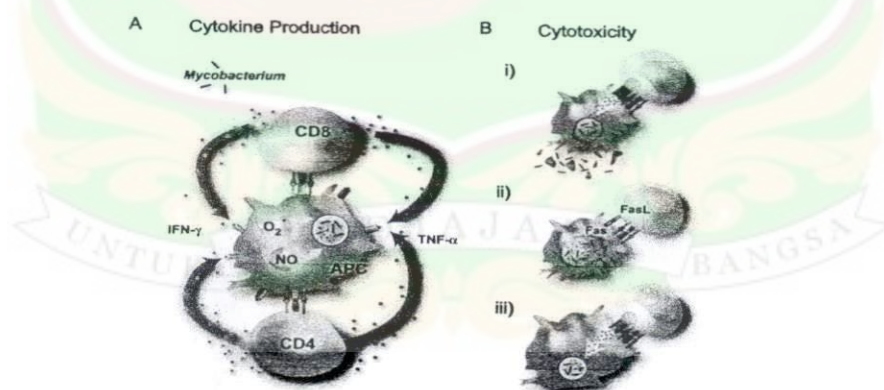
Sebaliknya, peran sel T CD8 masih belum banyak diketahui (gambar 2.5), hal yang jelas adalah adanya antigen M.tb pada sitoplasma APC akan dipresentasikan melalui jalur MHC klas I pada sel T CD8. Dalam hal ini antigen difragmentasi oleh proteasome menjadi peptida-peptida dan selanjutnya ditranspor ke dalam Retikulum Endoplasma (RE). Disini peptida berikatan dengan MHC klas I, membentuk kompleks dan ditranspor ke permukaan sel untuk

dipresentasikan. Mekanisme ini dapat dihambat oleh *Brefeldin A*, sebagai inhibitor transpor RE – Apparatus golgi (Lazarevic V & Flynn J.A, 2002; Canaday DH *et al*, 1999).

Pada makrofag, *Mycobacterium* yang berada di dalam fagosom tidak dipecah menjadi peptida, dalam hal ini adanya antigen terlarut di dalam sitoplasma menyebabkan induksi MHC klas I, sehingga pada keadaan ini tidak terdapat peran proteasome dan sirkulasi RE. Ini merupakan salah satu mekanisme alternatif dalam presentasi antigen pada MHC klas I (Canaday DH *et al*, 1999).

Sel T CD8 bekerja melalui beberapa mekanisme terhadap makrofag yang terinfeksi oleh M.tb: (Lazarevic V & Flynn J.A, 2002)

- Pelepasan sitokin tipe I bersama-sama dengan sel T CD4
- Efek sitotoksik melalui mekanisme eksositosis yang diperantarai oleh granul toksik
- Sitotoksitas yang diperantarai oleh interaksi Fas/Ligan
- Aktivitas mikrobisidal secara langsung terhadap *Mycobacteria*



Gambar 2.5. Mekanisme kerja sel T CD4 dan CD8 terhadap M.tb (Lazarevic V & Flynn J.A, 2002)

2.7. Pemeriksaan IFN- γ

Interferon merupakan sekelompok sitokin yang berfungsi sebagai kurir (pembawa berita) antar sel. Interferon dilepaskan berbagai macam sel bila distimulasi oleh berbagai macam penyebab seperti polinukleotida, beberapa sitokin lain serta ekstrak virus, jamur dan bakteri. Berdasarkan sifatnya terhadap antigen, IFN manusia terbagi menjadi 3 tipe utama yaitu α (diproduksi leukosit), β (diproduksi fibroblas) dan γ (diproduksi limfosit T). Interferon α dan β struktur dan fungsinya mirip selanjutnya disebut interferon tipe I. Interferon γ mempunyai reseptor berbeda dan secara fungsional berbeda dengan IFN α dan β selanjutnya disebut IFN tipe II. Meskipun banyak sitokin yang terlibat pada respons terhadap TB, IFN- γ memainkan peran kunci dalam meningkatkan efek limfosit T terhadap makrofag alveolar. Peran penting IFN- γ dalam memberantas M.tb dibuktikan pada tikus yang mengalami gangguan pada gen IFN- γ dan gen reseptor IFN- γ selanjutnya kuman M.tb diberikan secara intravena atau inhalasi. Pada kedua kelompok tikus terjadi kerusakan jaringan yang luas dan progresif, nekrosis serta proliferasi M.tb kemudian mati dalam 7-9 minggu setelah diberikan vaksin BCG (Subagyo A *et al*, 2006).

Pemeriksaan IFN- γ secara *in vitro* awalnya diteliti di peternakan sapi, berdasarkan inkubasi darah dengan *purified protein derivative* (PPD) selanjutnya dilakukan pemeriksaan imunologi IFN- γ yang dilepaskan sel limfosit T sebagai reaksi terhadap PPD. Produksi IFN- γ menunjukkan aktivasi sistem imun seluler, serupa dengan konsep uji tuberkulin. IFN- γ merupakan faktor imunoregulator penting yang mempunyai efek multipel terhadap perkembangan, kematangan dan

fungsi sistem imun (Black GF *et al*, 2002). Pada uji IFN- γ , limfosit darah tepi distimulasi secara in-vitro dan kadar IFN- γ yang dihasilkan oleh sel limfosit T tersensitisasi diukur dengan cara ELISA (Pai M *et al*, 2004).

Pada awalnya uji IFN- γ digunakan sebagai alat bantu diagnosis infeksi TB laten. Saat ini IFN- γ juga dapat digunakan sebagai alat bantu diagnosis TB aktif, membedakan infeksi *non tuberculous mycobacterium* (NTM) dengan M.tb, membedakan infeksi TB dengan vaksinasi BCG, menggambarkan korelasi imunitas protektif dan menentukan efektifitas vaksin, memprediksi timbulnya TB aktif pada infeksi laten serta monitoring efek terapi (Pai M *et al*, 2004).

Perkembangan pemeriksaan IFN- γ menggunakan antigen spesifik yang ada didalam kuman TB, yaitu *early secretory antigenic target-6* (ESAT-6) dan *culture filtrate protein 10* (CFP 10). Protein tersebut disandi oleh gen yang berlokasi di *region of difference 1* (RD1) genom kuman TB 10 yang jauh lebih spesifik dari PPD oleh karena tidak dijumpai di substrain kuman BCG dan sebagian besar kuman NTM kecuali pada *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium marinum* dan *Mycobacterium szulgani* (Pai M *et al*, 2004).

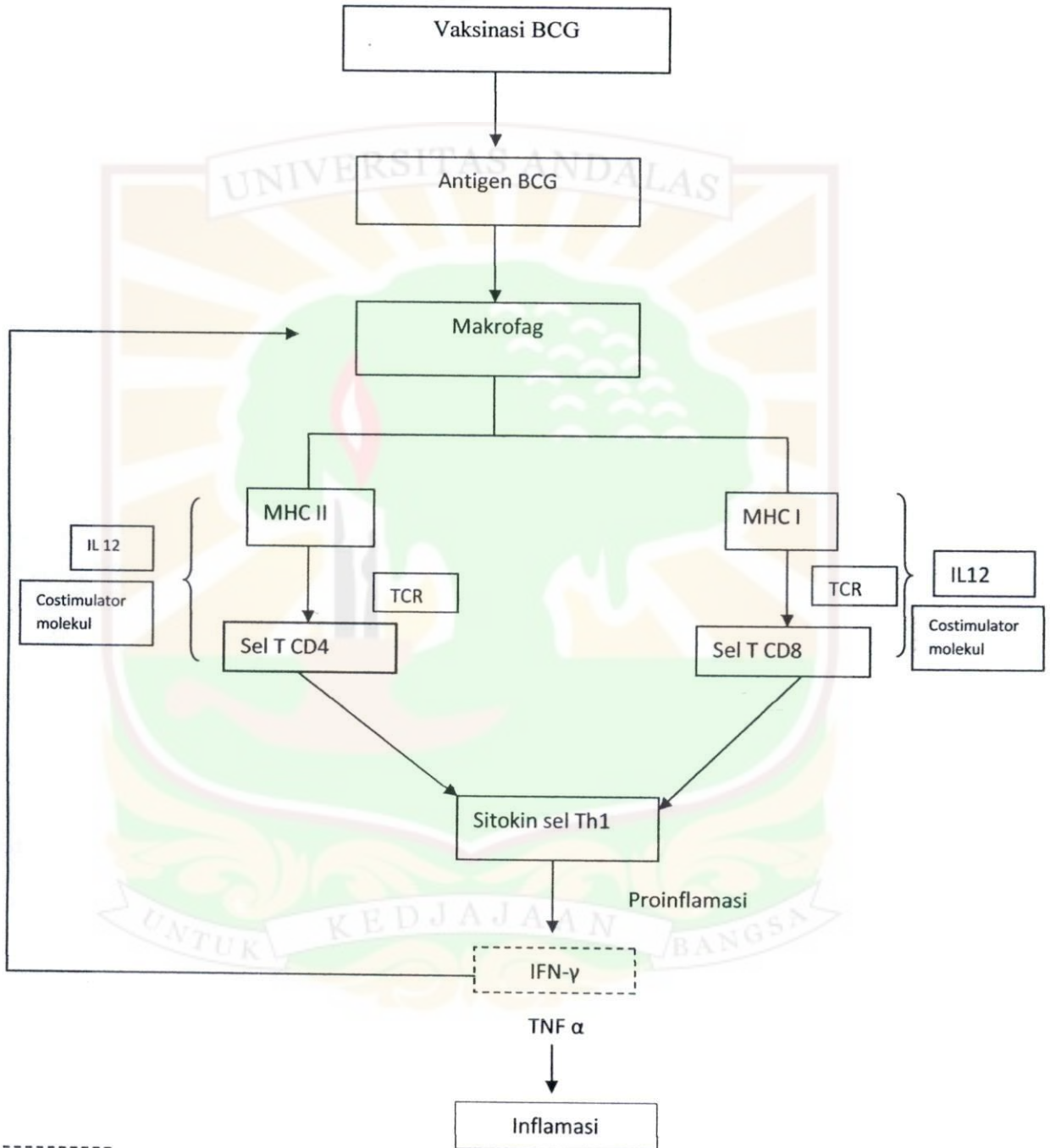
Pada awalnya pemeriksaan dilakukan cukup dengan mengukur kadar IFN- γ di dalam darah tepi tetapi kemudian berkembang menjadi pengukuran produksi IFN- γ oleh sel mononuklear. Hasil pemeriksaan ini ternyata belum dapat membedakan infeksi saja atau ada penyakit. Pemeriksaan IFN- γ hanya membutuhkan satu kali kunjungan. Spesifisitas pemeriksaan ini lebih tinggi daripada uji tuberkulin karena tidak ada reaksi silang dengan vaksinasi BCG dan infeksi *Mycobacterium atipik* (Pai M *et al*, 2004; Setyanto DB & Said M, 2008).

Dalam kaitannya dengan status BCG dibuktikan bahwa uji IFN- γ berbasis antigen RD1 mempunyai spesifisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan uji tuberkulin dan uji IFN- γ berbasis PPD, artinya bahwa kedua uji tersebut memberikan hasil positif pada mereka yang telah mendapat BCG (Pai M *et al*, 2004).



BAB III

KERANGKA TEORI DAN KONSEPTUAL



= yang diteliti

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Desain penelitian

Desain penelitian adalah *cross sectional*

4.2. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di bagian anak RS Dr. M. Djamil Padang dan laboratorium biomedik fakultas kedokteran Universitas Andalas. Waktu penelitian Februari 2012 – April 2013.

4.3. Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah anak yang mendapat vaksinasi BCG.

4.4. Sampel dan cara pemilihan sampel

Sampel penelitian adalah seluruh populasi yang memenuhi kriteria inklusi.

Cara pemilihan sampel dengan *stratified random sampling*.

4.5. Perkiraan besar sampel

Besar sampel didapat dengan menggunakan rumus:

$$n = \frac{Z\alpha^2 P \times Q}{d^2}$$

$$Z_{\alpha} = 1,96$$

P = proporsi vaksinasi BCG yang diperkirakan = 0.90

$$Q = 1 - P$$

d = tingkat ketepatan absolut yang dikehendaki (0,1)

$$n = 35$$

Dengan memperkirakan drop out 10% maka didapatkan jumlah sampel sebanyak 40 orang untuk tiap kelompok umur.

4.6. Kriteria Inklusi dan eksklusi

Kriteria inklusi:

1. Umur 4 bulan - 14 tahun
2. Mempunyai scar BCG
3. Orang tua bersedia anaknya diikutkan sebagai sampel penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

Kriteria eksklusi

1. Pernah menderita TB atau mendapat OAT
2. Pernah TST (*Tuberculin Skin Test*) dalam waktu kurang 2 minggu
3. Sedang mendapat terapi kortikosteroid lebih 2 minggu
4. Pasien dengan *imunocompromaise*
5. Pasien menderita keganasan

6. Peningkatan kadar IFN- γ >100 pg/ml setelah induksi dengan antigen TB (ESAT-6)

4.7. Variabel penelitian:

- **Variabel tergantung:**
 - Kadar IFN- γ kultur sel limfosit
- **Variabel bebas:**
 - Umur
 - Status gizi
 - Umur mendapatkan vaksinasi BCG
 - Sarana kesehatan tempat vaksinasi BCG

4.8. Definisi operasional

1. Jenis kelamin

Definisi : Jenis kelamin subyek penelitian

Cara ukur : Wawancara

Alat ukur : Kuesioner

Hasil ukur : - laki-laki

- perempuan

Skala ukur : Nominal

2. Umur

Definisi : Umur subyek saat penelitian ditentukan berdasarkan tanggal lahir sampai dengan hari ulang tahun terakhir

Cara ukur : Wawancara

Alat ukur : Kuesioner

Hasil ukur :- 4 - 11 bulan

- 1 - 4 tahun

- 5 - 9 tahun

- 10 - 14 tahun

Skala ukur : Ratio

3. Status gizi

Definisi : Keadaan gizi subyek saat penelitian menggunakan baku standar Center of Disease Control (CDC) berdasarkan berat badan berbanding panjang badan/ tinggi badan.

Cara ukur : Berat badan : bayi ditimbang dengan posisi berbaring terlentang atau duduk tanpa baju, sedang anak ditimbang dalam posisi berdiri tanpa sepatu dengan pakaian minimal. Sebelum menimbang, periksa lebih dahulu jarum menunjuk angka nol.

Panjang/tinggi badan : bayi ditidurkan terlentang tanpa sepatu dan tanpa topi, diusahakan agar tubuh bayi lurus. Panjang badan bayi dapat diukur dengan akurat dengan meletakkan vertex bayi pada kayu yang tetap sedangkan kayu yang dapat bergerak menyentuh tumit bayi. Pada anak, tinggi badan diukur dalam posisi berdiri tanpa sepatu, dan telapak kaki dirapatkan, dengan punggung bersandar pada dinding.

Alat ukur : Timbangan berat badan bayi dan timbangan berat badan berdiri, alat ukur panjang badan untuk bayi dan staturemeter untuk tinggi badan anak

Hasil ukur : - Gizi Lebih : BB berbanding PB/TB 110% - 120% P50
CDC 2000.

- Gizi baik : BB berbanding PB/TB $\geq 90\%$ - $<110\%$ P50
CDC 2000

- Gizi kurang : BB berbanding PB/TB 70% - $<90\%$ P50
CDC 2000

Skala ukur : Ordinal

4. Umur mendapatkan vaksinasi BCG

Definisi : Umur mendapatkan vaksinasi BCG pada subjek penelitian

Cara ukur : Melihat tanggal vaksinasi pada KMS/buku KIA, wawancara yang dipandu kuesioner

Alat ukur : KMS, Kartu Imunisasi

Hasil ukur : ≤ 1 bulan

>1 – 2 bulan

Skala ukur : Ordinal

5. Sarana kesehatan tempat vaksinasi BCG

Definisi : Tempat anak mendapatkan vaksinasi BCG

Cara ukur : Wawancara dipandu kuesioner

Alat ukur : Kuesioner

Hasil ukur : - Puskesmas/posyandu

- Rumah Sakit

- Praktek dokter

Skala ukur : Nominal

6. IFN- γ

Definisi : Sitokin yang dihasilkan oleh kultur sel limfosit.

Cara ukur : Elisa *Sandwich*

Alat ukur : Elisa *reader*

Hasil ukur : Konsentrasi IFN- γ dalam pg/ml

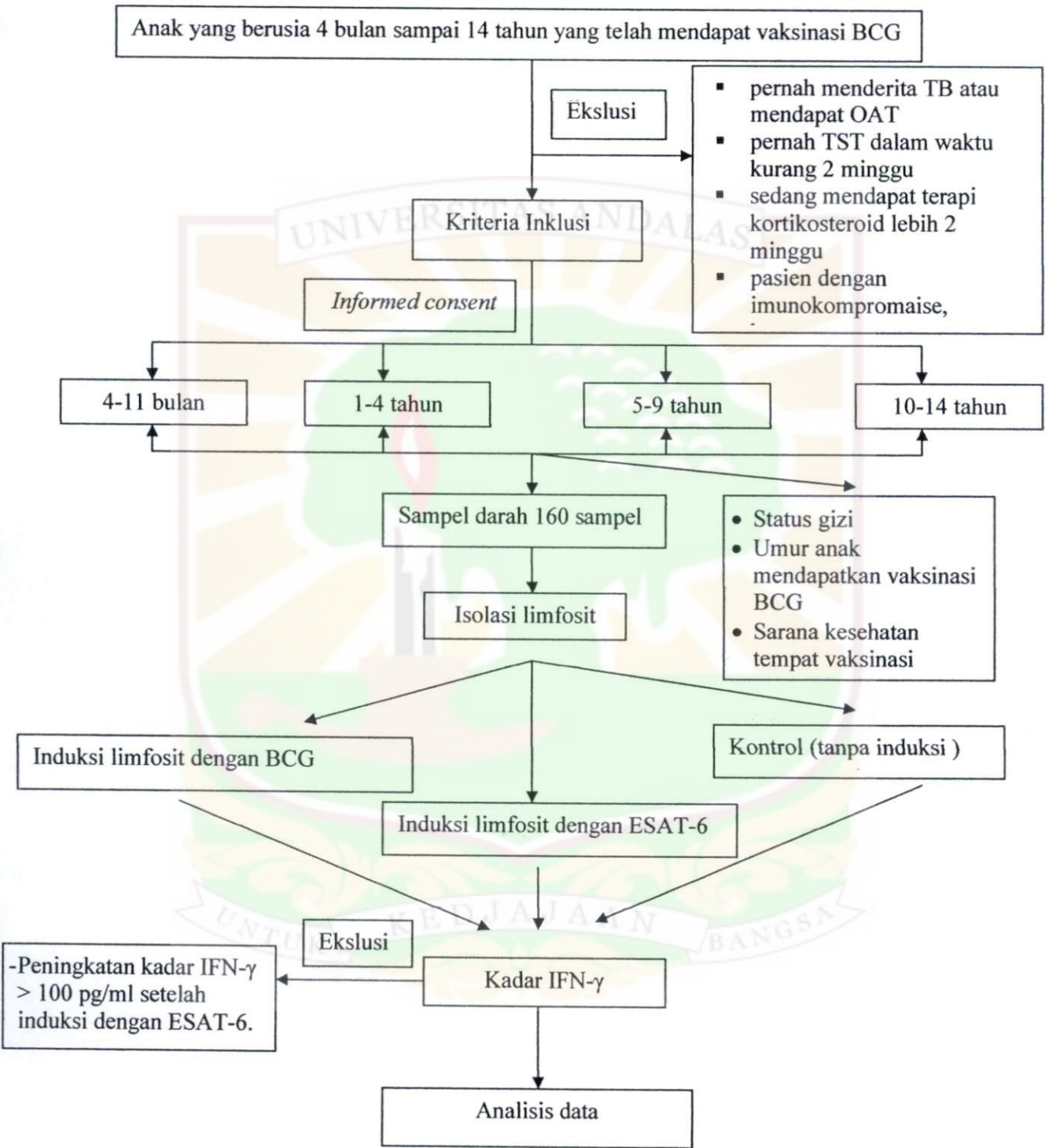
Skala ukur : Ratio

7. ESAT-6 : Protein yang dihasilkan oleh M.tb yang disandi oleh gen yang terdapat pada lokus RD1. Pada penelitian ini digunakan sebagai protein induktor.

8. BCG : Vaksin yang berasal dari M.bovis yang dilemahkan. Pada penelitian ini digunakan sebagai protein induktor.

9. Kontrol : Kultur sel limfosit yang tidak diinduksi antigen BCG maupun ESAT-6. IFN- γ yang dihasilkan merupakan IFN- γ basal dari sel limfosit.

4.9. Alur penelitian



4.10. Prosedur kerja

4.10.1. Subjek Teliti

Subjek penelitian adalah 40 anak tiap kelompok umur yang memenuhi kriteria inklusi. Semua anak yang dimasukkan ke dalam penelitian telah mendapatkan persetujuan oleh orang tua sesuai dengan dokumen etik penelitian. Sampel dibagi atas kelompok umur 4-11 bulan, 1-4 tahun, 5-9 tahun, 10-14 tahun.

4.10.2. Pengambilan darah vena perifer

Dilakukan secara aseptik berupa aspirasi darah perifer. Dilakukan pengambilan darah melalui vena perifer sebanyak $\pm 2,5$ ml yang dilakukan dengan aseptik oleh tenaga yang terlatih. Sampel segera diperiksa dalam 1 x 24 jam.

4.10.3. Isolasi dan kultur limfosit

Sebanyak 2.5 ml darah dicampur dengan *ficoll hypaque* sama banyak, disentrifus 5000 rpm selama 15 menit. Bagian yang terdapat di tengah tabung adalah *buffy coat* yang mengandung banyak sel limfosit dan monosit. Diambil bagian *buffy coat* dan dihitung konsentrasi limfosit yang didapat. 100 ul limfosit konsentrasi 5×10^5 dimasukkan ke dalam plat kultur yang telah berisi medium RPMI komplit. Setiap sampel terdiri dari 4 sumuran. Limfosit diinduksi dengan 50 ul ESAT-6 *M. tuberculosis* 0.5 ug/ml, 50 ul vaksin BCG dan kontrol. Plat kultur diinkubasi selama 7 hari pada inkubator CO₂ suhu 37°C.

4.10.4. Pemeriksaan kadar IFN- γ

Pemeriksaan IFN- γ dilakukan dengan metoda Elisa. Plat ditempel dengan human IgG anti IFN- γ dan diinkubasi semalam. 100 ul sampel cairan supernatan kultur ditambahkan dan diinkubasi 2 jam. Selanjutnya ditambahkan 100 ul antibodi sekunder, human anti IgG yang terikat dengan biotin. Ditambahkan lagi 100 ul Streptavidin alkali posfatase, inkubasi 2 jam. Reaksi diakhiri dengan penambahan subtrat 50 ul pNPP, inkubasi 1 jam. Setelah 7 hari, supernatan diambil dan diukur kadar IFN- γ menggunakan Elisa Reader. Konsentrasi IFN- γ dihitung berdasarkan kurva standar yang dibuat dari IFN- γ standar.

4.11. Analisis Data

Data yang terkumpul akan diolah menggunakan program statistik komputer. Setiap variabel yang diperiksa disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel. Dilakukan analisis hubungan antara variabel umur, status gizi, sarana kesehatan tempat mendapatkan vaksin, masing-masing dengan hasil pemeriksaan IFN- γ dengan uji statistik Anova dan waktu pemberian vaksinasi dengan uji *independent sample t test*.

4.12. Etika Penelitian

Etika penelitian pada manusia didasarkan pada protokol penggunaan manusia sebagai objek penelitian dan disahkan oleh komite etik (dalam hal ini dari komite etik penelitian RS. DR. M. Djamil Padang)

BAB V

HASIL PENELITIAN

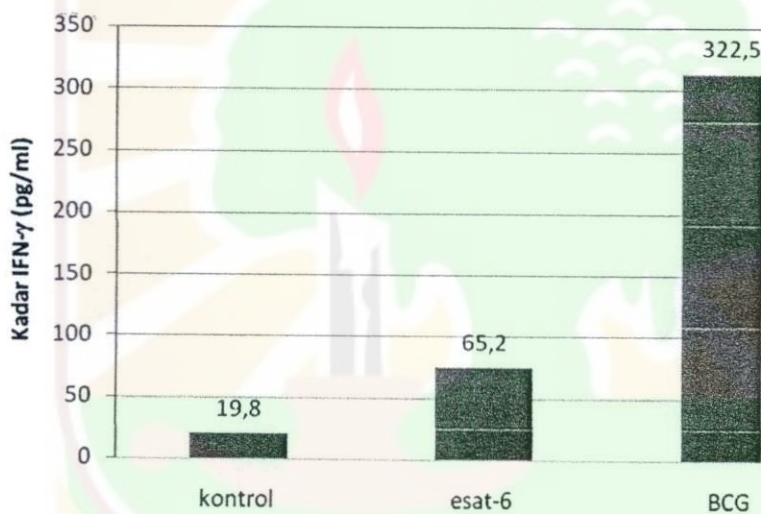
Pengumpulan sampel penelitian dilakukan sejak bulan April sampai Desember 2012 di poliklinik dan rawat inap anak RS. Dr .M. Djamil Padang pada anak yang mendapat vaksinasi BCG. Pada penelitian ini didapatkan 160 sampel sesuai dengan kriteria inklusi. Sebanyak 16 sampel diekslusi karena peningkatan kadar IFN- γ yang diinduksi ESAT-6. Karakteristik anak yang mendapat vaksinasi BCG terlihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1. Karakteristik anak yang mendapat vaksinasi BCG scar (+)

Karakteristik	f	%
Umur		
• 4 - 11 bulan	35	24,3
• 1 - 4 tahun	35	24,3
• 5 - 9 tahun	39	27,1
• 10 - 14 tahun	35	24,3
Jenis kelamin		
• Laki-laki	68	47,2
• Perempuan	76	52,8
Status gizi		
• Gizi lebih	7	4,9
• Gizi baik	59	41,0
• Gizi kurang	78	54,1
Umur mendapatkan vaksinasi BCG		
• ≤ 1 bulan	125	86,8
• $>1 - 2$ bulan	19	13,2
Sarana kesehatan tempat vaksinasi BCG		
• Posyandu	55	38,2
• Puskesmas	83	57,6
• Rumah sakit	6	4,2

Pada tabel 5.1. sampel terbanyak adalah umur 5-9 tahun yaitu 39 (27,1%), perempuan 52,8%. Status gizi kurang didapatkan lebih banyak (54,1%). Umur anak mendapatkan vaksinasi BCG terbanyak umur ≤ 1 bulan (86,8%) dengan sarana kesehatan tempat mendapatkan vaksinasi BCG terbanyak di puskesmas (57,6%).

Rerata kadar IFN- γ pada 144 sampel berdasarkan jenis antigen induksi



Gambar 5.1. Perbandingan kadar IFN- γ protein induktor ESAT-6 dengan BCG pada kultur sel limfosit.

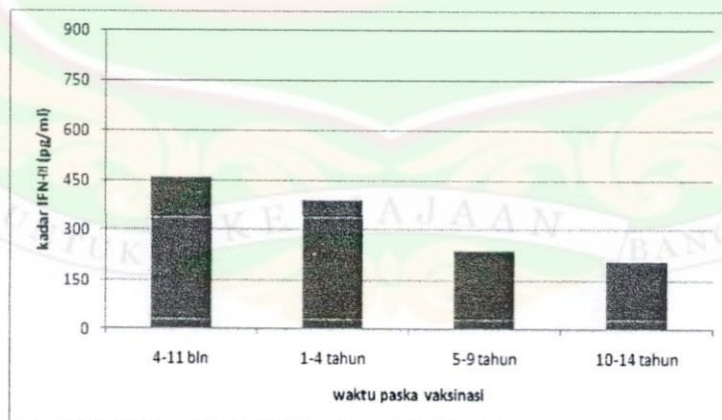
Kadar IFN- γ yang diinduksi oleh antigen BCG $\pm 5x$ lebih tinggi dibandingkan kadar IFN- γ yang diinduksi oleh antigen ESAT-6.

Tabel 5.2 Hubungan kadar IFN- γ dengan umur

Protein	Kelompok Umur				P
	4-11 bulan	1 – 4 tahun	5-9 tahun	10 – 14 tahun	
Kontrol, rerata (SD) pg/ml	20,9 (14,2)	16,1 (10,7)	18,3 (14,4)	24,2 (14,9)	0,080
BCG, rerata (SD) pg/ml	461,9 (169,3)	391,4 (127,0)	237,8 (97)	208,5 (130,4)	0,000

Hubungan kadar IFN- γ dengan kelompok umur (tabel 5.2) memperlihatkan kadar IFN- γ yang tertinggi pada kelompok umur 4-11 bulan (461,9 (SD 169,3) pg/ml), diikuti kelompok umur 1-4 tahun, 5-9 tahun dan 10-14 tahun. Uji statistik Anova menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar IFN- γ dengan kelompok umur ($P=0,000$).

Analisis *post hoc* dengan *least significant difference* (LSD) memperlihatkan perbedaan bermakna kadar IFN- γ antara kelompok umur 4-11 bulan dengan 1-4 tahun ($P=0,028$) dan antara 1-4 tahun dengan 5-9 tahun ($P=0,000$). Perbedaan bermakna kadar IFN- γ tidak ditemukan antara periode 5-9 tahun dengan 10-14 tahun ($P=0,344$).



Gambar 5.2. Perbandingan kadar IFN- γ yang diinduksi dengan BCG berdasarkan waktu paska vaksinasi.

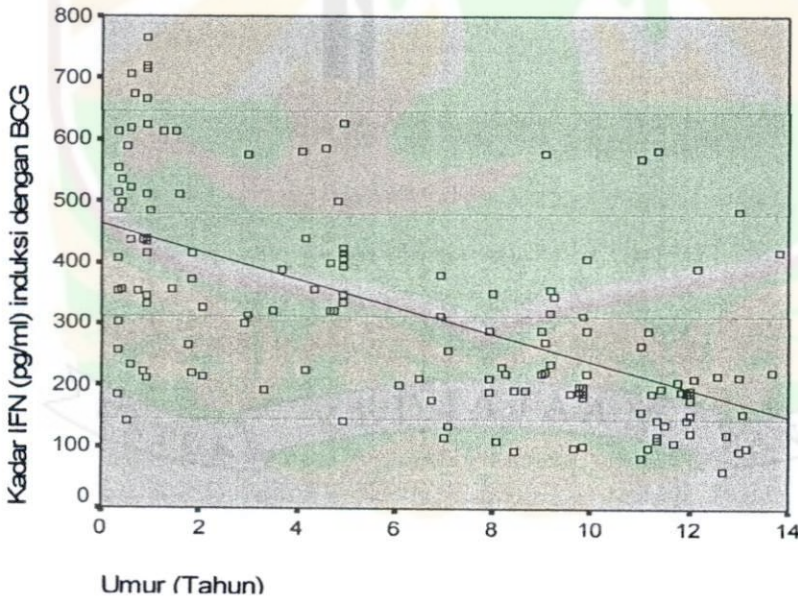
Konsentrasi IFN- γ tampak semakin berkurang dengan bertambahnya umur. Pada gambar 5.2 terlihat perbandingan kadar IFN- γ yang diinduksi BCG berdasarkan waktu paska vaksinasi.

Tabel 5.3. Hasil uji korelasi antara kadar IFN- γ yang diinduksi BCG dengan umur

		Umur	IFN- γ yang diinduksi BCG
Umur	Pearson Correlation	1	-,590(**)
	Sig. (2-tailed)	.	,000
	N	144	144
BCG	Pearson Correlation	-,590(**)	1
	Sig. (2-tailed)	,000	.
	N	144	144

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Hasil uji korelasi antara kadar IFN- γ yang diinduksi BCG dengan umur memperlihatkan nilai $r=-0,590$ dan $P=0,000$ (tabel 5.3)



Gambar 5.3. Korelasi antara kadar IFN- γ yang diinduksi BCG dengan umur

Tabel 5.4 Hubungan kadar IFN- γ dengan status gizi

Protein	Status gizi			P
	Gizi kurang	Gizi baik	Gizi lebih	
Kontrol, rerata (SD) pg/ml	19,1 (12,4)	22,1 (15,7)	9,8 (5,7)	0.065
BCG, rerata (SD) pg/ml	301,2 (162,1)	355,1 (177,9)	285,6 (110,3)	0.149

Hubungan kadar IFN- γ dengan status gizi terlihat pada tabel 5.4. Kadar IFN- γ yang diinduksi BCG terlihat tinggi pada status gizi baik diikuti dengan gizi kurang dan gizi lebih. Hasil uji statistik tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kadar IFN- γ yang diinduksi BCG dengan status gizi ($P=0,149$).

Tabel 5.5 Hubungan kadar IFN- γ dengan umur mendapatkan vaksinasi BCG

Protein	Umur mendapatkan vaksinasi BCG		P
	≤ 1 bulan	$>1 - 2$ bulan	
Kontrol, rerata (SD) pg/ml	19,9 (14,3)	19,2 (10,9)	0.836
BCG, rerata (SD) pg/ml	314,5 (160,8)	375,4 (207,1)	0.141

Tabel 5.5. memperlihatkan kadar IFN- γ yang diinduksi BCG lebih tinggi pada vaksinasi yang diberikan umur $>1-2$ bulan. Uji statistik *independent t test* tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kadar IFN- γ dengan umur mendapatkan vaksinasi ($P= 0,141$).

Tabel 5.6. Hubungan kadar IFN- γ dengan sarana kesehatan tempat mendapatkan vaksinasi BCG

Protein	Sarana kesehatan tempat vaksinasi BCG			P
	Posyandu	Puskesmas	Rumah sakit	
Kontrol, rerata (SD) pg/ml	17,8 (11,6)	21,4 (15,1)	17,9 (14,4)	0,316
BCG, rerata (SD) pg/ml	348,8 (182,4)	306,8 (161,5)	299,1 (107,5)	0,335

Kadar IFN- γ yang diinduksi BCG pada vaksinasi yang dilakukan di posyandu lebih tinggi daripada kadar IFN- γ pada vaksinasi yang dilakukan di puskesmas dan rumah sakit. Uji statistik Anova tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kadar IFN- γ dengan sarana kesehatan tempat mendapatkan vaksinasi (tabel 5.6)

BAB VI

PEMBAHASAN

Pemberian vaksinasi BCG telah dilakukan sejak 1921, meskipun demikian, perdebatan mengenai efektifitas BCG dalam memproteksi bayi/anak terhadap penyakit TB masih terus berlangsung dan TB masih merupakan masalah kesehatan masyarakat yang utama di seluruh dunia (WHO, 2011; Health Protection Surveillance Centers, 2010; Rahajoe NN *et al*, 2007). Telah banyak hipotesis yang menjelaskan tidak adekuatnya efek protektif BCG terhadap tuberkulosis sebagai akibat kurangnya stimulasi yang efektif dari sel T (Kalpana S *et al*, 2012). Penelitian dilakukan untuk mengetahui respon vaksinasi BCG melalui pemeriksaan IFN- γ kultur sel limfosit dengan BCG sebagai protein induktor pada anak yang telah mendapat vaksinasi BCG.

Sebanyak 16 sampel diekskusi dari penelitian sesuai dengan kriteria ekskusi. Pada sampel ini terdapat peningkatan kadar IFN- γ setelah diinduksi ESAT-6 yang merupakan protein spesifik M.tb. Perlu penelusuran lebih lanjut untuk deteksi infeksi M.tb pada sampel penelitian tersebut.

Hasil penelitian ini mendapatkan perempuan sedikit lebih banyak dari laki-laki yaitu 52,8% sedangkan penelitian Djuardi Y dkk (2010) di daerah Jati Sampurna dan Jati Karya mendapatkan jumlah laki-laki sama banyak dengan perempuan (50%) (Djuardi Y *et al*, 2010). Beberapa penelitian lain tidak memisahkan karakteristik sampel berdasarkan jenis kelamin.

6.1. Perbandingan kadar IFN- γ protein induktor ESAT-6 dan BCG pada kultur sel limfosit

Perbandingan kadar IFN- γ protein induktor ESAT-6 dan BCG pada kultur sel limfosit memperlihatkan nilai yang tinggi pada kadar interferon dengan BCG sebagai protein induktor (322,5 pg/ml). Beberapa penelitian telah memperlihatkan bahwa vaksinasi BCG akan meningkatkan respon sel T, terutama sel Th1 yang ditandai dengan produksi IFN- γ yang bukan merupakan komponen akhir dalam membunuh M.tb, namun dalam hal ini IFN- γ berperan dalam menginduksi aktivasi makrofag. Sitokin ini akan mengaktivasi makrofag melalui reseptor yang ada di dalam makrofag. Makrofag yang aktif selanjutnya akan berupaya untuk membunuh bakteri melalui mekanisme fagolisosom, produksi ROI dan RNI, sel itu juga membunuh bakteri melalui berbagai mekanisme, antara lain produksi granul toksik, apoptosis dan lain sebagainya (Lazarevic V & Flynn J.A, 2002; Menon MPS, 1997). ESAT-6 yang digunakan sebagai protein induktor merupakan protein spesifik kuman M.tb tetapi tidak ditemukan pada vaksin BCG (Eisenhut M *et al*, 2009). Hal ini berkaitan dengan evolusi mikobakteria itu sendiri, dimana lokus RD1 yang memuat gene ESAT-6 telah mengalami delesi pada M. bovis strain BCG (Brosch R *et al*, 2002). Fenomena ini juga menjelaskan kenapa titer IFN- γ paska induksi ESAT-6 tidak dipengaruhi oleh vaksinasi BCG.

6.2 Hubungan kadar IFN- γ dengan umur

Kadar IFN- γ yang diinduksi BCG didapatkan tertinggi pada kelompok umur 4-11 bulan (461,9 (SD 169,3) pg/ml). Terlihat bahwa kadar IFN- γ menurun seiring dengan pertambahan umur. Uji statistik Anova menunjukkan perbedaan

bermakna ($P=0,00$). Perbedaan bermakna antara 4–11 bulan dengan 1–4 tahun dan 1–4 tahun dengan 5–9 tahun sebaliknya tidak terdapat perbedaan bermakna antara 5–9 tahun dengan 10–14 tahun. Hal ini menunjukkan penurunan respon sel T memori yang signifikan setelah anak berumur lebih dari 1 tahun. Uji korelasi menunjukkan nilai signifikan dan korelasi sedang antara kadar IFN- γ dengan umur.

Penelitian yang menggunakan uji tuberkulin untuk menilai respon vaksinasi BCG mendapatkan bahwa lebih 50% bayi yang mendapat BCG saat lahir tidak reaktif lagi terhadap uji tuberkulin saat berumur 9–12 bulan dan negatif setelah berumur 5 tahun.(Starke JR & Munoz FM, 2004). Briassoulis dkk (2005) menilai efektifitas BCG umur 6 tahun, 12 tahun, 15 tahun mendapatkan efektifitas BCG menurun setelah 12 tahun (Briassoulis G *et al*, 2005). Penelitian Anuradha dkk (2007) mendapatkan kadar IFN- γ pada umur kurang 6 tahun 3316 ± 718 pg/ml, umur 6–8 tahun 2880 ± 733 pg/ml, umur 9–12 tahun 1360 ± 344 pg/ml. Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok umur kurang 6 tahun dengan 9–12 tahun dan 6–8 tahun dengan 9–12 tahun. Penurunan respon BCG dengan bertambahnya umur dan penurunan bermakna pada umur 9–12 tahun yang dibuktikan dengan tingginya insiden TB di India pada umur 10–14 tahun (15,4–16,9 %).(Anuradha B *et al*, 2007). Penelitian Kalpana S dkk (2012) pada anak umur 5–8 tahun mengukur kadar IFN- γ yang distimulasi BCG disertai uji tuberkulin mendapatkan kadar IFN- γ tinggi pada anak yang telah divaksinasi BCG dengan uji tuberkulin positif yaitu 37 ± 4 pg/ml, sedangkan anak yang divaksinasi BCG uji tuberkulin negatif kadar IFN- γ sebesar 10 ± 5 pg/ml.

Kurangnya respon IFN- γ pada anak yang mendapat vaksinasi BCG dan uji tuberkulin negatif disebabkan karena tidak adanya sel T memori dan mengindikasikan vaksinasi yang sudah tidak efektif pada anak ini (Kalpana S *et al*, 2012). Penelitian Djuardi Y dkk (2010) mendapatkan kadar IFN- γ meningkat hanya sampai umur 2 tahun (Djuardi Y *et al*, 2010). Beberapa penelitian telah memperlihatkan bahwa BCG efektif diberikan pada anak tetapi efektifitasnya menurun dengan bertambahnya umur. Imunitas dapat ditingkatkan dengan memberikan boster vaksin modifikasi dari BCG seperti r32kDa (Ag85A) (Anuradha B *et al*, 2007).

6.3. Hubungan kadar IFN- γ dengan status gizi

Indikator BB/TB merupakan indikator yang baik untuk menyatakan status gizi (Hendarto A & Sjarif DR, 2011). Kadar IFN- γ yang diinduksi BCG tertinggi pada status gizi baik yaitu 355,1 (SD 177,9) pg/ml namun tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kadar IFN- γ yang diinduksi BCG dengan status gizi ($P=0,149$). Pada penelitian ini didapatkan kadar IFN- γ yang rendah pada kelompok gizi lebih, hal ini dapat disebabkan distribusi sampel yang tidak merata, jumlah sampel terlalu sedikit pada kelompok gizi lebih yaitu 7 sampel, sehingga rerata kadar IFN- γ yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan kelompok gizi kurang dan gizi baik. Disamping itu, pada penelitian ini diperiksa kadar IFN- γ dari kultur sel limfosit yang diperlakukan pada medium dengan nutrisi yang sama.

Mekanisme utama terjadinya penurunan imunitas selama gizi kurang berhubungan dengan gangguan aktivasi limfosit T. Gangguan aktivitas sel T

berhubungan dengan defisit produksi sitokin yang merupakan mediator imunitas (Savy M *et al*, 2009).

Penelitian ini berbeda dengan penelitian Zaldivar dkk (2006) yang mendapatkan peningkatan respon sitokin proinflamasi pada kelompok gizi lebih yang berhubungan dengan terdapatnya peningkatan jumlah limfosit (Zaldivar F *et al*, 2006).

6.4 Hubungan kadar IFN- γ dengan umur mendapatkan vaksinasi BCG

Sebanyak 125 sampel (86,8%) mendapatkan vaksinasi saat berumur kurang dari satu bulan sedangkan penelitian Djuardi Y dkk (2010) mendapatkan vaksinasi BCG paling banyak umur 1-4 minggu (44%), 28% pada umur 4-8 minggu, 25% pada umur 8 minggu dan 3% pada umur kurang 1 minggu, bila dikelompokkan umur ≤ 1 bulan 47% dan umur > 1 bulan 53% (Djuardi Y *et al*, 2010). Di Indonesia pemberian vaksin BCG pada anak sudah merupakan suatu program kesehatan pemerintah, sesuai dengan rekomendasi WHO, menganut pemberian BCG segera setelah lahir (Sterne JA *et al*, 1998). Pemeriksaan kadar IFN- γ yang diinduksi BCG lebih tinggi pada vaksinasi yang diberikan umur $> 1-2$ bulan yaitu 375,4 (SD 207,1) pg/ml dibandingkan dengan vaksinasi yang diberikan pada umur ≤ 1 bulan. Uji statistik *independent sample t test* tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kadar IFN- γ dengan waktu pemberian vaksinasi ($P=0,141$). Terjadinya antibodi spesifik pada pejamu terhadap vaksin yang diberikan akan mempengaruhi keberhasilan vaksinasi. Keberhasilan vaksinasi juga memerlukan maturitas imunologik. Pada neonatus fungsi makrofag masih kurang, terutama fungsi mempresentasikan antigen karena

ekspresi MHC masih kurang, selain deformabilitas membran serta respon kemotaktik yang masih kurang (Rahajoe NN *et al*, 2008). Pada tahun 2011 Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI) mulai merekomendasikan pemberian vaksinasi BCG optimal pada umur 2-3 bulan (Rahajoe NN, *et al*, 2008).

6.5 Hubungan kadar IFN- γ dengan sarana kesehatan tempat mendapatkan vaksinasi BCG

Lebih dari setengah sampel mendapatkan vaksinasi di puskesmas (57,6%). Pemeriksaan kadar IFN- γ yang diinduksi BCG pada vaksinasi yang dilakukan di Posyandu lebih tinggi daripada vaksinasi yang dilakukan di puskesmas dan rumah sakit. Setelah dilakukan uji statistik tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kadar IFN- γ dengan sarana kesehatan tempat mendapatkan vaksinasi. Syarat-syarat penyimpanan dan transportasi vaksin untuk menjamin potensinya sebelum diberikan kepada anak harus diperhatikan. Bila syarat tersebut tidak diperhatikan maka vaksin sebagai material biologis mudah rusak atau kehilangan potensinya untuk merangsang kekebalan tubuh, sehingga diperlukan pemahaman mengenai ketahanan vaksin terhadap perbedaan suhu dan pemahaman rantai vaksin (*cold-chain*) agar sejak dari pabrik sampai saat diberikan kepada pasien tetap terjamin kualitasnya. Penyimpanan vaksin BCG di Rumah sakit, puskesmas maupun posyandu harus memperhatikan syarat-syarat yang telah ditentukan. Untuk membawa vaksin dalam jumlah sedikit dan jarak tidak terlalu jauh dapat menggunakan kotak dingin (*cold box*) atau vaccine carrier (termos) (Rahajoe NN, *et al*, 2008). Rendahnya kadar IFN- γ pada anak yang mendapat vaksinasi BCG di

rumah sakit pada penelitian ini dapat disebabkan jumlah sampel yang terlalu sedikit yaitu 6 sampel, sehingga rerata kadar IFN- γ yang dihasilkan menjadi rendah. Peninjauan ulang tata cara penyimpanan vaksin di rumah sakit juga diperlukan untuk mempertahankan kualitas vaksin.



BAB VII

PENUTUP

7.1. KESIMPULAN

1. Kadar IFN- γ anak setelah vaksinasi BCG menurun sesuai dengan pertambahan umur anak.
2. Terdapat hubungan bermakna antara kadar IFN- γ anak dengan umur.
3. Tidak terdapat hubungan bermakna kadar IFN- γ anak dengan status gizi.
4. Tidak terdapat hubungan bermakna kadar IFN- γ anak dengan umur mendapatkan vaksinasi, tetapi kadar IFN- γ lebih tinggi pada anak yang mendapatkan vaksinasi umur 1-2 bulan.
5. Tidak terdapat hubungan bermakna kadar IFN- γ anak dengan sarana kesehatan tempat mendapatkan vaksinasi.

7.2. SARAN

1. Perlu dipertimbangkan pemberian booster vaksinasi BCG pada anak umur 1 tahun.
2. Vaksinasi BCG sebaiknya diberikan pada umur 2 bulan.
3. Perlu penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar dan pada daerah berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Anuradha B, Santosh CM, Priya VH, Latha GS, Murthy KJR, Lakshmi VV. 2007. Age-related waning of in vitro Interferon- γ levels against r32kDaBCG in BCG vaccinated children. *J Immune Based Ther Vaccines*.5:1-7.
- Barreto ML, Pereira SM, Ferreira A. 2006. BCG vaccine. Efficacy and indications for vaccination and revaccination. *J Pediatr*.82:45-54.
- Behr MA. 2002. BCG-different strains, different vaccines? *Lancet Infect Dis*.;2:86-92.
- Behr MA. 2001. Correlation between BCG genomics and protective efficacy. *Scand J Infect Dis*.33:249-52.
- Black GF, Weir RE, Floyd S, Bliss L, Warndorff DK, Crampin AC, et al. 2002. BCG-induced increase in interferon-gamma response to mycobacterial antigens and efficacy of BCG vaccination in Malawi and the UK: Two randomised controlled studies. *Lancet*. 359:1393-401.
- Brennan M. 2005. The tuberculosis vaccine challenge. *Tuberculosis*.8:7-12.
- Brewer TF. 2000. Preventing tuberculosis with Bacillus Calmette-Gue'rin vaccine: A meta-analysis of the literature. *Clinical Infectious Diseases*.31:64-7.
- Brosch R, GordonSV, Marmiesse M, Brodin P, Buchrieser C, Eiglmeier K, et al. 2002. A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex. *PNAS*.99:3684-9.

- Briassoulis G, Karabatsou I, Gogoglou V, Tsorva A. 2005. BCG vaccination at three different age groups: response and effectiveness. *J Immune Based Ther Vaccines*. 3:1-12.
- Britton WJ, Palendira U. 2003. Improving vaccines against tuberculosis. *Immunol Cell Biol*. 81:34-45
- Canaday DH, Ziebold C, Noss EH, Chervenak KA, Harding CV, Boom WH. 1999. Activation of human CD8⁺ $\alpha\beta$ TCR⁺ cells by mycobacterium tuberculosis via an alternate class I MHC antigen-processing pathway. *J Immunol*. 162:372-79.
- Choi HS, Rai PR, Chu HW, Cool C, Chan ED. 2002. Analysis of nitric oxide synthase and nitrotyrosine expression in human pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care med*. 166:178-86.
- Collazo EL, Hortelano S, Rojas A, Bosca L. 1998. Triggering of peritoneal macrophages with IFN- α/β attenuates the expression of inducible nitric oxide synthase through a decrease in NF- κ B activation. *The J Immunol*. 160:2889-95.
- Cowley SC, Elkins KE. 2003. CD4⁺ T cells mediate IFN- γ independent control of mycobacterium tuberculosis infection both in vitro and in vivo. *J Immunol*. 171:4689-99.
- Crevel R, Ottenhoff THM, Meer JWM. 2002. Innate immunity to mycobacterium tuberculosis. *Clin Microbiol Rev*. 15:294-309.
- Djuardi Y, Sartono E, Wibowo H, Supali T, Yazdanbakhsh M. 2010. A longitudinal study of BCG vaccination in early childhood: The

- development of innate and adaptive immune responses. *PLoS One*. 5:e14066.
- Donald PR. 2004. Childhood tuberculosis: The hidden epidemic. *Int J Tuberc Lung Dis*.8:627–9.
- Doherty M.T, Andersen P. 2005. Vaccines for tuberculosis: Novel concepts and recent progress. *Clin Microbiol Rev*.;18:687–702
- Ehrt S, Schnappinger D, Bekiranov S, Drenkow J, Shi S, Gingeras TR, et al. 2001. Reprogramming of the macrophage transcriptome in response to interferon- γ and mycobacterium tuberculosis : Signaling roles of nitric oxide synthase-2 and phagocyte oxidase. *J exp med*.194:1123-39.
- Eisenhut M, Paranjothy P, Abubakar I, Bracebridge S, Lilley M, Mulla R, et al. 2009. BCG vaccination reduces risk of infection with mycobacterium tuberculosis as detected by gamma interferon release assay. *Vaccine*. 27:6116-20.
- Ellner JJ, Hirsch CS, Whalen CC. 2000. Correlates of protective immunity to mycobacterium tuberculosis in humans. *Clin Infect Dis*. 30:279-82.
- Fjallbrant H. 2008. BCG vaccination and the tuberculin skin test in a country with low prevalence of tuberculosis. Thesis. Sweden. Dept of Microbiology and Immunology Institute of Biomedicine University of Gothenburg.
- Gray JW. 2004. Childhood tuberculosis and its early diagnosis. *Clin. Biochem*.37:450-5.
- Hawkrige A, Davids V, Hanekom WA, Gamielien H, Gelderbloem SJ, Hussey GD, et al. 2006. The effect of bacille Calmette-Guerin vaccine strain and

- route of administration on induced immune responses in vaccinated infants. *J Infect Dis.* 193:531-6.
- Health protection surveillance centers. 2010. VCG Vaccination. In: Guideline on the prevention and control of tuberculosis in Ireland. Ireland: Health protection surveillance centers; p. 88-93.
- Hendarto A, Sjarif DR. 2011. Antropometri anak dan remaja. In: Sjarif DR, Lestari ED, Mexitalia M, Nasar SS, editors. Buku ajar nutrisi dan penyakit metabolik. 1st ed. Jakarta: Badan penerbit IDAI. P. 23-35.
- Hussey GD, Watkins ML, Goddard EA, Gottschalk S, Hughes EJ, Iloni K, et al. 2002. Neonatal mycobacterial specific cytotoxic T-lymphocyte and cytokine profiles in response to distinct BCG vaccination strategies. *Immunology.*105:314-24.
- Infuso A, Falzon D. 2005. European survey of BCG vaccination policies and surveillance in children. *Euro Surveill.* 2006;11:6-11
- Kalpana S, Prabha C, Kumarasamy V, Datta M. 2012. Invitro cytokine response in BCG vaccinated and non-vaccinated children. *J Microbiol Biotech Res.* 2(5):828-31.
- Kaufman SHE. 2002. Protection againts tuberculosis: cytokines, T cells, and macrophages. *Ann Rheum Dis.* 61(2):54-8.
- Kopydlowski KM, Salkowski CA, Cody MJ, Rooijen N, Major J, Hamilton TA, et al. 1999. Regulation of macrophage chemokine expression by lipopolysaccharide in vitro and in vivo. *J Immunol.* 163:1537-44.

- Lazarevic V, Flynn J.A. 2002. CD8⁺ T Cells in Tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 166:1116-21.
- Matsuo K, Yasutomi Y, Hindawi.2011.Mycobacterium bovis Bacille Calmette-Guérin as a vaccine vector global infectious disease control. *Tuberculosis Research and Treatment rev.*11:1-9.
- Matondang CS, Notoatmojo H. 2008. Aspek imunologi imunisasi. In: Akib A, Munazir Z, Kurniati N, editors. *Buku ajar alergi imunologi anak.* Jakarta: Badan Penerbit IDAI. h. 154-9.
- Martin C. 2005.The dream of a vaccine against Tuberculosis; new vaccines improving or replacing BCG?. *Eur Respir J.*26:162–7.
- Menon MPS. 1997. A New look at the immunology of Tuberculosis. *Ind J Tub.*44:3-6
- Mittrucker HW, Steinhoff U, Kohler A, Krause M, Lazar D, Mex P, et al. 2007. Poor correlation between BCG vaccination-induced T cell responses and protection against tuberculosis. *PNAS.*104:12434-39.
- Mosser DM. 2003.The many faces of macrophage activation. *J Leukoc Biol.*73:209-13.
- Murray RA, Mansoor N, Harbacheuski R, Soler J, Davids V, Soares A, et al. 2006. Bacillus Calmette Guerin vaccination of human newborns induces a specific, functional CD8⁺ T cell response. *J Immunol.*177:5647–51.
- Pai M, Riley LW, Colford Jr JM. 2004. Interferon γ assay in the immunodiagnostic of tuberculosis: a systemic review. *Lancet infect dis.* 4:761-76.

- Pasteur S. BCG vaccine (freeze-dried). Cited 2011 November. Available from: http://www.vaccineshoppecanadacom/document.cfm?file=BCG_vaccine_E.pdf.
- Rahajoe NN. Tuberkulosis. 2008. In: Ranuh I, Suyitno H, Hadiono SR, Kartasasmita CB, Ismoedijanto, Soedjatmiko. Pedoman imunisasi di Indonesia. 3rd ed. Jakarta: Badan penerbit IDAI. p.131-4.
- Rahajoe NN, Kartasasmita CB, Basir D, Makmuri MS. 2007. Peran BCG pada tuberkulosis. In: Rahajoe NN, Kartasasmita CB, Basir D, Makmuri MS, editors. Pedoman nasional tuberkulosis anak. Jakarta: UKK respirologi PP IDAI. p. 75-7
- Robinson N, Wolke M, Ernestus K, Plum G. 2007. Mycobacterial gene involved in synthesis of an outer cell envelope lipid is a key factor in prevention of fagosome maturation. *Infect Immun*. 75:581-91.
- Said M, Boediman I. 2008. Imunisasi BCG pada anak. In: Rahajoe NN, Supriyatno B, Setyanto DB, editors. Buku ajar respirologi anak. 1st ed. Jakarta. Badan penerbit IDAI. p. 252-60.
- Savy M, Edmond K, Fine P, Hall A, Hennig B, Moore SE et al. 2009. Landscape analysis of interactions between nutrition and vaccine responses in children. *J Nutr*. 139:2154S-2218S.
- Setyanto DB, Said M. 2008. Diagnosis tuberkulosis pada anak. In: Rahajoe NN, Supriyatno B, Setyanto DB, editors. Buku ajar respirologi anak. 1st ed. Jakarta: Badan penerbit IDAI. H. 194-213.

- Smith I. 2003. *Mycobacterium tuberculosis*; Pathogenesis and molecular determinants of virulence. *Clin Microbiol Rev.* 16:463-96.
- Sterne JA, Rodrigues LC, Guedes IN. 1998. Does the efficacy of BCG decline with time since vaccination? *Int J Tuberc Lung Dis.*;2:200-7.
- Starke, JR., Smith M. Tuberculosis. 2004. In: Feigen R, Cherry JD, editors. *Textbook of pediatric infectious diseases*. 5th ed. Philadelphia: Saunders; p. 1337-79.
- Starke JR, Munoz FM. 2007. Tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*). In: Behrman RE, Kliegman RM, Jensen HB, editors. *Nelson textbook of pediatrics*. 18th ed. Philadelphia: WB saunders company; p. 958-74
- Subagyo A, Aditama TY, Sutoyo D, Partakusuma LG. 2006. Pemeriksaan Interferon-gamma dalam darah untuk deteksi infeksi tuberkulosis. *Jurnal TB Indonesia..* 3(2):6-16.
- Todar K. 2011. *Mycobacterium tuberculosis and tuberculosis*. *Todar's online textbook of bacteriology*.
- Turner OC, Basaraba RJ, Orme IM. 2003. Immunopathogenesis of pulmonary granulomas in the guinea pig after infection with *mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 71:864-71.
- Trunz BB, Fine P, Dye C. 2006. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculous meningitis and miliary tuberculosis worldwide: A meta analysis and assessment of cost-effectiveness. *Lancet.*367:1173-80.
- World Health Organization. 2006. *Guidance for national tuberculosis programmes on the management of tuberculosis in children*. Geneva. WHO

World Health Organization report. 2011.Global tuberculosis control. Geneva.
WHO

World Health Organization. 2005. Global Tuberculosis Control; Surveillance,
Planning, Financing. Geneva: WHO.

WHO. 2004.BCG vaccine. WHO position paper. Wkly Epidemiol Rec. 79:27-38.

Zaldivar F, McMurray RG, Nemet D, Galasseti P, Mills PJ and Cooper DM.
2006. Body fat and circulating leukocytes in children. Int J Obes. 30:906-
11.

Zhang S, Shao L, Mo L, Chen J, Wang F, Meng C, et al. 2010. Interferon release
assays using mycobacterium tuberculosis antigens for diagnosis of latent
and active tuberculosis in mycobacterium bovis BCG-vaccinated
populations. Clinical And Vaccine Immunology;17:1985-90.



DEPARTEMEN KESEHATAN RI
BLU RS. DR. M. JAMIL PADANG
PANITIA ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Alamat : Jl. Perintis Kemerdekaan Padang 25127

Nomor : PE.13.2012

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
ETHICAL CLEARANCE

Panitia etik penelitian BLU RSUP Dr. M. Djamil Padang dalam upaya melindungi hak azazi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran telah mengkaji dengan teliti proposal dengan judul

The committee of the medical research ethics of the Dr. M. Djamil Hospital with regards of the protection of human rights and welfare of subjects in medical research has carefully review the proposal entitle :

Kadar interferon gamma
pada anak yang mendapat vaksinasi BCG

Nama peneliti utama : Liza Fitria
Name of the principal investigator

Nama institusi : PPDS Ilmu Kesehatan Anak
FK UNAND

Name of the institution

Telah menyetujui proposal tersebut diatas
Approved the above mentioned proposal

Padang, 16 April 2012

Ketua
Chairman



Prof. Dr. H. Darwin Amir, SpS(K)
NIP. 194811201978071001

Lampiran 1

FORMULIR KESEDIAAN MENGIKUTI PEMERIKSAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini adalah orang tua/wali ;

Nama :

Alamat :

Bersedia dengan penuh kesadaran dan tanpa paksaan dari siapapun untuk mengikuti pemeriksaan yang bertujuan untuk menilai kadar kekebalan dalam darah setelah vaksinasi BCG melalui pemeriksaan darah yang dilakukan pada anak saya;

Nama :

Alamat :

Tanggal lahir :

Usia :

Jenis kelamin :

Yang memberi izin

()

Lampiran 2

KUESIONER VAKSINASI BCG

1. Nama :
2. Jenis kelamin : Lk/Pr
3. Tempat/tanggal lahir :
4. Umur :
5. Alamat lengkap :
6. Nomor telepon rumah/HP :
7. Berat badan : kg
8. Tinggi Badan : cm
9. Ayah
 - Nama :
 - Umur :
 - Pendidikan :
 - Pekerjaan :
10. Ibu
 - Nama :
 - Umur :
 - Pendidikan :
 - Pekerjaan :
11. Apakah anak mendapat vaksinasi BCG saat umur ≤ 1 bulan ?
 - a. Ya
 - b. Tidak
12. Apakah pernah uji tuberkulin dalam waktu kurang 2 minggu ?
 - a. Ya
 - b. Tidak
13. Apakah pernah menderita TB atau mendapat OAT ?
 - a. Ya
 - b. Tidak
14. Dimanakah anak mendapatkan vaksinasi BCG ?
 - a. Puskesmas
 - b. Rumah sakit
 - c. Praktek dokter

DATA SAMPEL

No	Nama	Jenis Kelamin	Umur (tahun)	BB/TB	STATUS GIZI	Vaksinasi		Tempat vaksinasi	kadar IFN (pg/ml)		
						<= 1 bln	>1bln		kontrol	esat-6	BCG
1	ebigel	perempuan	5 bln	90.9	Baik	ya	0	posyandu	4.8	34.2	355.2
2	rahim	laki-laki	4 bln	93	Baik	ya	0	posyandu	46.4	95.3	352.8
3	joshua	laki-laki	6 bln	94	Baik	ya	0	posyandu	23.2	65.2	588.4
4	jlimi	laki-laki	11 bln	85.5	Kurang	ya	0	puskesmas	15.3	79.3	345.7
5	karenina	perempuan	4 bln	105	Baik	ya	0	posyandu	16.8	89.4	612.5
6	velove	perempuan	10 bln	88.3	Kurang	ya	0	posyandu	32.4	78.6	436.4
7	Salma	perempuan	4 bln	95	Baik	ya	0	puskesmas	11.4	75.3	512.4
8	mesjunita	perempuan	4 bln	108	Kurang	ya	0	posyandu	9.3	92.7	185.7
9	asifa	perempuan	8 bln	71	Kurang	ya	0	puskesmas	35.6	67.4	675.4
10	Dhevit	laki-laki	11 bln	81	Kurang	0	ya	puskesmas	31.3	88.9	765.3
11	difania	perempuan	4 bln	88.8	Kurang	ya	0	puskesmas	43.2	54.3	406.7
12	rizki aditia	laki-laki	4 bln	88	Kurang	ya	0	puskesmas	17.6	48.4	488.2
13	by ratna	laki-laki	11 bln	90	Baik	0	ya	puskesmas	34.3	65.3	665.4
14	katrina	perempuan	5 bln	91	Baik	ya	0	posyandu	23.2	99.2	498.4
15	faiz	laki-laki	11 bln	90	Baik	ya	0	posyandu	22.1	56.4	715.3
16	maizil ilham	laki-laki	7 bln	95	Baik	ya	0	puskesmas	12.8	18.3	232.3
17	by erika	laki-laki	4 bln	91.7	Baik	ya	0	posyandu	18.3	43.2	303.4
18	rini wardini	perempuan	5 bln	90.9	Baik	0	ya	posyandu	21.3	58.7	534.6
19	m.alfaraq	laki-laki	11 bln	91	Baik	ya	0	posyandu	32.4	69.9	212.5
20	rafael	laki-laki	4 bln	96	Baik	ya	0	posyandu	12.6	45.6	553.4
21	kinako	laki-laki	7 bln	95	Baik	ya	0	posyandu	6.8	93.4	706.3
22	ade Irfan h	laki-laki	10 bln	78.75	Kurang	ya	0	puskesmas	9.3	61.7	221.8
23	Raysya	perempuan	11 bln	85.5	Kurang	ya	0	puskesmas	34.2	79.7	415.3
24	riski ali	laki-laki	6 bln	98.7	Baik	ya	0	posyandu	6.2	88.3	142.3
25	putri berlian	perempuan	4 bln	71.4	Kurang	0	ya	puskesmas	24.4	76.8	256.3
26	dio oktaviano	laki-laki	11 bln	105	Baik	ya	0	posyandu	8.7	44.5	623.1
27	azka fikra	laki-laki	11 bln	85.57	Kurang	ya	0	puskesmas	9.1	32.8	512.3
28	aprilia dwi	perempuan	7 bln	95	Baik	ya	0	posyandu	12.8	62.3	617.3
29	hanifa yola. s	perempuan	11 bln	93	Baik	ya	0	posyandu	62.3	45.7	438.6
30	Elga	perempuan	7 bln	102	Baik	ya	0	puskesmas	42.4	99.8	435.6
31	M.Glo	laki-laki	11 bln	85.5	Kurang	ya	0	puskesmas	3.4	43.8	332.4

32	Nabila	perempuan	11 bln	90	Baik	0	ya	puskesmas	6.3	56.7	719.7
33	m ikhwan	laki-laki	9 bln	88.3	Kurang	ya	0	posyandu	11.1	35.4	352.4
34	No name	laki-laki	11 bln	81	Kurang	0	ya	puskesmas	3.8	99.8	432.5
35	Abib Nalla	perempuan	7 bln	104.1	Baik	ya	0	puskesmas	28.3	49.2	522.8
36	fikri rafif	perempuan	1	80	Kurang	ya	0	puskesmas	9.3	99.8	483.6
37	wahyu f	laki-laki	4 9/ 12	80.9	Kurang	ya	0	RS	7.8	46.3	322.3
38	khaesya	perempuan	1 9/ 12	81.8	Kurang	ya	0	puskesmas	11.8	88.2	265.7
39	syafatir	laki-laki	4 2/ 12	117	Lebih	ya	0	posyandu	8.3	80.4	438.2
40	berti	perempuan	4 11/12	87.5	Kurang	ya	0	puskesmas	22.3	49.3	392.3
41	faizan	laki-laki	1 6/ 12	88.2	Kurang	0	ya	puskesmas	11.3	99.8	612.4
42	syazvina aurora	perempuan	2 1/12	73.39	Kurang	ya	0	posyandu	6.7	11.8	212.8
43	moza	perempuan	4 11/12	85.2	Kurang	ya	0	puskesmas	8.9	49.8	405.8
44	M. zahra	perempuan	4 8/12	88.2	Kurang	ya	0	posyandu	12.3	76.3	321.5
45	fauzan	laki-laki	1 10/ 12	77.8	Kurang	ya	0	posyandu	7.2	54.2	413.4
46	Syawal dika putra	laki-laki	1 3/ 12	92.7	Baik	ya	0	posyandu	4.6	43.2	613.5
47	Rahmat	laki-laki	3	86.7	Kurang	ya	0	posyandu	11.6	56.4	574.9
48	fahmi khalis	laki-laki	4 11/12	93.3	Baik	ya	0	puskesmas	6.2	67.8	347.6
49	sacio	perempuan	4 10/ 12	88.2	Kurang	ya	0	posyandu	7.5	90.1	499.7
50	aprilia amelia	perempuan	1 7/12	75.47	Kurang	ya	0	puskesmas	7.7	45.8	512.3
51	avinza seno	laki-laki	4 1/12	88.24	Kurang	ya	0	puskesmas	14.8	88.6	579.4
52	fauzan	laki-laki	1 10/ 12	77.8	Kurang	ya	0	posyandu	29.3	46.4	371.6
53	luthfi az	laki-laki	3 4/ 12	93.3	Baik	ya	0	puskesmas	32.4	75.3	192.3
54	Azizuazi	laki-laki	4 7/12	84.21	Kurang	ya	0	puskesmas	6.8	65.3	586.8
55	farid	laki-laki	3 6/ 12	95	Baik	ya	0	RS	34.5	45.2	321.3
56	falsal	laki-laki	2 11/12	100	Baik	ya	0	puskesmas	18.7	32.8	298.6
57	rafki	laki-laki	4 11/12	96.97	Baik	ya	0	puskesmas	18.3	88.9	413.4
58	fatih alfazikri	laki-laki	3 8/ 12	96.77	Baik	ya	0	puskesmas	6.8	38.4	388.6
59	zoan elyano	laki-laki	2 1/12	90.1	Baik	0	ya	RS	42.1	71.2	325.5
60	pik lduk	perempuan	4 8/ 12	88	Kurang	ya	0	puskesmas	28.1	44.4	398.7
61	m.ancta	laki-laki	4 11/ 12	91.89	Baik	ya	0	puskesmas	8.8	49.2	421.6
62	pani wulandari	perempuan	4 11/12	86.4	Kurang	ya	0	posyandu	13.3	45.6	335.6
63	fadel Tris	laki-laki	1 5/12	96.1	Baik	ya	0	puskesmas	7.8	75.5	355.4
64	angga	laki-laki	3	75	Kurang	0	ya	puskesmas	23.2	72.3	312.8
65	nadiatul	perempuan	4 2/ 12	73.3	Kurang	ya	0	puskesmas	17.3	61.7	223.8
66	trias alisya p	perempuan	4 11/12	100	Baik	ya	0	posyandu	32.3	46.9	415.3
67	bunga s	perempuan	4 11/12	77.2	Kurang	ya	0	posyandu	7.8	84.3	625.4

68	triana	perempuan	1 10/ 12	98	Baik	ya	0	posyandu	13.4	98.3	218.5
69	puji	perempuan	4 4/ 12	100	Baik	ya	0	puskesmas	23.2	49.7	356.7
70	zahra	perempuan	4 11/12	87.5	Kurang	ya	0	posyandu	42.2	85.3	142.5
71	afrina deva	perempuan	6 6/ 12	88	Kurang	ya	0	posyandu	16.4	56.3	212.6
72	m.fauzan	laki-laki	8	105	Baik	ya	0	puskesmas	23.4	54.8	349.5
73	violasmil	perempuan	9	80.9	Kurang	ya	0	puskesmas	11.4	88.5	288.6
74	rohldatul	perempuan	8 2/12	96	Baik	ya	0	puskesmas	9.2	58.6	231.4
75	fajar dinata	laki-laki	8 8/ 12	92	Baik	0	ya	puskesmas	6.7	92.3	192.7
76	dwi putri	perempuan	8 5/12	74.07	Kurang	ya	0	posyandu	21.1	47.3	192.1
77	putri	perempuan	8 5/12	74.07	Kurang	ya	0	posyandu	9.3	29.8	92.6
78	genta	laki-laki	9 11/12	90	Baik	ya	0	puskesmas	12.1	55.4	219.7
79	cantika cania	perempuan	9 5/6	100	Baik	ya	0	posyandu	23.4	78.3	312.3
80	farid nugroho	laki-laki	6 1/ 12	117	Lebih	ya	0	puskesmas	20.2	83.5	199.8
81	ramzil	laki-laki	7	79.54	Kurang	ya	0	puskesmas	17.9	46.4	116.1
82	azral	laki-laki	7 1/12	97.82	Baik	ya	0	posyandu	6.9	79.3	134.2
83	rezky okta	laki-laki	9 9/ 12	88	Kurang	ya	0	posyandu	17.6	88.1	188.9
84	putri	perempuan	7 11/12	74.5	Kurang	ya	0	puskesmas	8.8	65.9	288.7
85	arif malpal	laki-laki	9 3/ 12	75	Kurang	ya	0	posyandu	7.9	59.1	345.2
86	lingga rizki	perempuan	9 10/ 12	77.8	Kurang	ya	0	posyandu	13.4	47.5	102.7
87	alfikri	laki-laki	9	88.3	Kurang	ya	0	posyandu	24.7	77.5	218.6
88	nauri	perempuan	7 11/12	89.47	Kurang	ya	0	puskesmas	28.4	68.8	211.2
89	putri	perempuan	7 11/12	74.5	Kurang	ya	0	posyandu	8.7	42.3	188.7
90	m.toha	laki-laki	9 2/ 12	120	Lebih	ya	0	posyandu	3.9	82.4	355.2
91	febl andriani	perempuan	6 11/ 12	71	Kurang	0	ya	puskesmas	12.3	61.1	312.3
92	fauzan	laki-laki	9 1/12	75	Kurang	0	ya	posyandu	21.3	66.2	271.4
93	Setia delfian p	perempuan	9 10/ 12	76.36	Kurang	ya	0	puskesmas	6.2	67.5	198.7
94	jean	perempuan	9 1/12	118	Lebih	ya	0	puskesmas	12.8	88.5	221.6
95	dina safitri	perempuan	9 9/ 12	108.33	Baik	ya	0	puskesmas	22.7	72.7	199.2
96	nabila syifa	perempuan	6 9/ 12	93.3	Baik	ya	0	puskesmas	34.4	65.3	176.8
97	laura	perempuan	8 1/12	89.5	Kurang	ya	0	puskesmas	11.6	98.3	109.7
98	nurul	perempuan	9 2/ 12	86.9	Kurang	ya	0	posyandu	22.3	75.8	318.7
99	zelin	perempuan	9 11/12	113	Lebih	ya	0	puskesmas	3.9	56.7	406.7
100	lfda M	perempuan	9 11/ 12	81.5	Kurang	ya	0	puskesmas	27.6	55.8	289.7
101	fauzan magribi	laki-laki	9 1/12	75	Kurang	0	ya	posyandu	32.3	45.2	577.9
102	Imam maulana	laki-laki	6 11/12	107	Baik	ya	0	puskesmas	85.4	76.3	380.8
103	m.fikri	laki-laki	9 10/ 12	114	Lebih	ya	0	puskesmas	7.9	65.2	182.3

104	putra jaya	laki-laki	7 1/12	82.05	Kurang	ya	0	puskesmas	15.5	27.8	257.3
105	gina raudatul	perempuan	8 3/12	74.5	Kurang	ya	0	puskesmas	8.9	43.3	218.5
106	wulan utari	perempuan	9 8/12	71.42	Kurang	ya	0	posyandu	15.2	88.7	99.8
107	shlintia	perempuan	9 10/12	83.3	Kurang	ya	0	puskesmas	43.2	65.7	188.3
108	vony	perempuan	9 2/12	92.3	Baik	ya	0	puskesmas	29.3	88.7	235.2
109	wldi s	laki-laki	9 7/12	81	Kurang	ya	0	posyandu	8.9	89.3	188.6
110	m.farhan	laki-laki	11 2/12	75.8	Kurang	ya	0	puskesmas	23.2	32.3	98.7
111	tomi hartono	laki-laki	12 9/12	87.5	Kurang	ya	0	puskesmas	28.3	72.7	121.6
112	fariska	perempuan	12	74.4	Kurang	ya	0	puskesmas	43.5	90.8	124.3
113	afriyansyah	laki-laki	11 6/12	72.97	Kurang	ya	0	RS	16	95.4	135.4
114	yumna silvia	perempuan	12 8/12	84.37	Kurang	ya	0	puskesmas	54.8	44.5	61.8
115	uswatunnisa	perempuan	11 8/12	71.4	Kurang	ya	0	puskesmas	63.4	72.3	106.7
116	Ovi Andiki	perempuan	12 1/2	84.21	Kurang	ya	0	puskesmas	17.3	75.8	211.6
117	suci canla	perempuan	13 10/12	102.6	Baik	ya	0	puskesmas	46.4	36.3	418.3
118	viroy	laki-laki	11 3/12	77.6	Kurang	ya	0	puskesmas	38.4	56.3	188.6
119	nadia pertiwi	perempuan	11 10/12	96	Baik	ya	0	puskesmas	43.2	99.7	188.9
120	nadia P	perempuan	11 11/12	100	Baik	ya	0	posyandu	21.1	34.6	145.7
121	kristin	perempuan	13	97.06	Baik	ya	0	posyandu	35.4	59.7	214.2
122	deni	laki-laki	11	88.8	Kurang	0	ya	puskesmas	23.4	45.4	156.7
123	ega maulana	laki-laki	11	103.3	Baik	ya	0	puskesmas	21.4	37.8	82.7
124	lala	perempuan	11 4/12	104.92	Baik	ya	0	puskesmas	6.4	45.6	111.8
125	dian angraini	perempuan	13	90.62	Baik	0	ya	puskesmas	9.3	64.2	92.8
126	nabila	perempuan	11	76.9	Kurang	ya	0	posyandu	11.8	32.4	570.5
127	irsyad	laki-laki	11 4/12	75.7	Kurang	ya	0	posyandu	23.4	24.4	117.3
128	safira	perempuan	12 7/12	84.1	Kurang	ya	0	RS	7.4	88.8	217.4
129	yori	perempuan	12	76.9	Kurang	ya	0	posyandu	21.8	76.3	192.4
130	rizka ramadan	perempuan	11 9/12	75	Kurang	0	ya	puskesmas	8.8	63.2	206.3
131	gizela tetra titania	perempuan	11 4/12	100	Baik	ya	0	puskesmas	43.2	33.8	583.8
132	haura	perempuan	11	91.2	Baik	ya	0	puskesmas	32.4	88.3	265.5
133	dzakia	perempuan	12 2/12	86.3	Kurang	ya	0	puskesmas	12.3	47.6	389.4
134	riza	perempuan	13 1/12	90.9	Baik	ya	0	puskesmas	5.9	65.4	154.7
135	Eko saputra	laki-laki	13 2/12	104.3	Baik	ya	0	posyandu	21.3	88.7	98.7
136	maharani	perempuan	11 5/12	120	Lebih	ya	0	puskesmas	11.4	83.7	195.4
137	alfin hidayat	laki-laki	11 4/12	70.59	Kurang	ya	0	puskesmas	13.2	35.3	145.6
138	raissa	perempuan	12	107.4	Baik	0	ya	puskesmas	22.2	49.3	188.2
139	bening	perempuan	11 2/12	97.2	Baik	0	ya	RS	8.6	99.8	288.3

140	yose deliandi	laki-laki	13 8/ 12	86	Kurang	0	ya	puskesmas	22.6	60.2	221.6
141	ahmad hadi	laki-laki	13	97.06	Baik	ya	0	posyandu	7.2	88.7	485.3
142	genta r	laki-laki	11 11/12	90	Baik	ya	0	puskesmas	21.3	76.3	188.6
143	habil furqani	laki-laki	12	75.67	Kurang	ya	0	puskesmas	44.1	99.8	176.5
144	rangga oktaviano	laki-laki	12	71.4	Kurang	ya	0	posyandu	17.4	99.8	151.5



Frequency Table

Jenis Kelamin					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Laki-laki	68	47,2	47,2	47,2
	Perempuan	76	52,8	52,8	100,0
	Total	144	100,0	100,0	

Kelompok umur					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	4 bln - 11 bln	35	24,3	24,3	24,3
	1-4 tahun	35	24,3	24,3	48,6
	5-9 tahun	39	27,1	27,1	75,7
	10-14 tahun	35	24,3	24,3	100,0
	Total	144	100,0	100,0	

Status gizi					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Kurang	78	54,2	54,2	54,2
	Baik	59	41,0	41,0	95,1
	Lebih	7	4,9	4,9	100,0
	Total	144	100,0	100,0	

Vaksinasi					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	≤ 1 bulan	125	86,8	86,8	86,8
	> 1 bulan	19	13,2	13,2	100,0
	Total	144	100,0	100,0	

Tempat vaksinasi					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Posyandu	55	38,2	38,2	38,2
	Puskesmas	83	57,6	57,6	95,8
	RS	6	4,2	4,2	100,0
	Total	144	100,0	100,0	

Descriptives

Descriptive Statistics					
	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Umur	144	4	179	75,49	54,704
BB/TB	144	70,60	120,00	89,1595	11,48898
kontrol	144	3,4	85,4	19,853	13,8633
esat-6	144	11,8	99,8	65,176	21,2237
BCG	144	61,8	765,3	322,497	168,0953
Valid N (listwise)	144				

Oneway

Descriptives Umur								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4 bln - 11 bln	35	7,63	2,951	,499	6,61	8,64	4	11
1-4 tahun	35	41,86	16,826	2,844	36,08	47,64	12	59
5-9 tahun	39	103,21	13,588	2,176	98,80	107,61	73	119
10-14 tahun	35	146,09	13,093	2,213	141,59	150,58	132	179
Total	144	75,49	54,704	4,559	66,48	84,50	4	179

ANOVA Umur					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	405160,413	3	135053,471	830,457	,000
Within Groups	22767,559	140	162,625		
Total	427927,972	143			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons Dependent Variable: Umur LSD

(I) Kelompok umur	(J) Kelompok umur	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
4 bln - 11 bln	1-4 tahun	-34,23(*)	3,048	,000	-40,26	-28,20
	5-9 tahun	-95,58(*)	2,969	,000	-101,45	-89,71
	10-14 tahun	-138,46(*)	3,048	,000	-144,48	-132,43
1-4 tahun	4 bln - 11 bln	34,23(*)	3,048	,000	28,20	40,26
	5-9 tahun	-61,35(*)	2,969	,000	-67,22	-55,48
	10-14 tahun	-104,23(*)	3,048	,000	-110,26	-98,20
5-9 tahun	4 bln - 11 bln	95,58(*)	2,969	,000	89,71	101,45
	1-4 tahun	61,35(*)	2,969	,000	55,48	67,22
	10-14 tahun	-42,88(*)	2,969	,000	-48,75	-37,01
10-14 tahun	4 bln - 11 bln	138,46(*)	3,048	,000	132,43	144,48
	1-4 tahun	104,23(*)	3,048	,000	98,20	110,26
	5-9 tahun	42,88(*)	2,969	,000	37,01	48,75

* The mean difference is significant at the .05 level.

Oneway

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	4 bln - 11 bln	35	20,954	14,1872	2,3981	16,081	25,828	3,4	62,3
	1-4 tahun	35	16,131	10,7398	1,8154	12,442	19,821	4,6	42,2
	5-9 tahun	39	18,285	14,3671	2,3006	13,627	22,942	3,9	85,4
	10-14 tahun	35	24,223	14,9343	2,5244	19,093	29,353	5,9	63,4
	Total	144	19,853	13,8633	1,1553	17,570	22,137	3,4	85,4
esat-6	4 bln - 11 bln	35	65,586	22,1217	3,7393	57,987	73,185	18,3	99,8
	1-4 tahun	35	63,557	21,7047	3,6688	56,101	71,013	11,8	99,8

	5-9 tahun	39	66,672	17,8370	2,8562	60,890	72,454	27,8	98,3
	10-14 tahun	35	64,720	23,9336	4,0455	56,499	72,941	24,4	99,8
	Total	144	65,176	21,2237	1,7686	61,680	68,672	11,8	99,8
BCG	4 bln - 11 bln	35	461,963	169,3113	28,6188	403,802	520,123	142,3	765,3
	1-4 tahun	35	391,423	127,0464	21,4748	347,781	435,065	142,5	625,4
	5-9 tahun	39	237,803	97,0040	15,5331	206,357	269,248	92,6	577,9
	10-14 tahun	35	208,480	130,3614	22,0351	163,699	253,261	61,8	583,8
	Total	144	322,497	168,0953	14,0079	294,808	350,187	61,8	765,3

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
kontrol	Between Groups	1291,483	3	430,494	2,301	,080
	Within Groups	26191,895	140	187,085		
	Total	27483,378	143			
esat-6	Between Groups	192,136	3	64,045	,140	,936
	Within Groups	64221,604	140	458,726		
	Total	64413,740	143			
BCG	Between Groups	1581800,890	3	527266,963	30,022	,000
	Within Groups	2458812,349	140	17562,945		
	Total	4040613,239	143			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons LSD

Dependent Variable	(I) Kelompok umur	(J) Kelompok umur	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
kontrol	4 bln - 11 bln	1-4 tahun	4,823	3,2696	,142	-1,641	11,287
		5-9 tahun	2,670	3,1847	,403	-3,627	8,966
		10-14 tahun	-3,269	3,2696	,319	-9,733	3,196
	1-4 tahun	4 bln - 11 bln	-4,823	3,2696	,142	-11,287	1,641
		5-9 tahun	-2,153	3,1847	,500	-8,450	4,143
		10-14 tahun	-8,091(*)	3,2696	,015	-14,556	-1,627
	5-9 tahun	4 bln - 11 bln	-2,670	3,1847	,403	-8,966	3,627

		1-4 tahun	2,153	3,1847	,500	-4,143	8,450
		10-14 tahun	-5,938	3,1847	,064	-12,235	,358
	10-14 tahun	4 bln - 11 bln	3,269	3,2696	,319	-3,196	9,733
		1-4 tahun	8,091(*)	3,2696	,015	1,627	14,556
		5-9 tahun	5,938	3,1847	,064	-,358	12,235
esat-6	4 bln - 11 bln	1-4 tahun	2,029	5,1199	,693	-8,094	12,151
		5-9 tahun	-1,086	4,9868	,828	-10,945	8,773
		10-14 tahun	,866	5,1199	,866	-9,257	10,988
	1-4 tahun	4 bln - 11 bln	-2,029	5,1199	,693	-12,151	8,094
		5-9 tahun	-3,115	4,9868	,533	-12,974	6,745
		10-14 tahun	-1,163	5,1199	,821	-11,285	8,959
	5-9 tahun	4 bln - 11 bln	1,086	4,9868	,828	-8,773	10,945
		1-4 tahun	3,115	4,9868	,533	-6,745	12,974
		10-14 tahun	1,952	4,9868	,696	-7,907	11,811
	10-14 tahun	4 bln - 11 bln	-,866	5,1199	,866	-10,988	9,257
		1-4 tahun	1,163	5,1199	,821	-8,959	11,285
		5-9 tahun	-1,952	4,9868	,696	-11,811	7,907
BCG	4 bln - 11 bln	1-4 tahun	70,540(*)	31,6796	,028	7,908	133,172
		5-9 tahun	224,160(*)	30,8566	,000	163,155	285,165
		10-14 tahun	253,483(*)	31,6796	,000	190,851	316,115
	1-4 tahun	4 bln - 11 bln	-70,540(*)	31,6796	,028	-133,172	-7,908
		5-9 tahun	153,620(*)	30,8566	,000	92,615	214,625
		10-14 tahun	182,943(*)	31,6796	,000	120,311	245,575
	5-9 tahun	4 bln - 11 bln	-224,160(*)	30,8566	,000	-285,165	-163,155
		1-4 tahun	-153,620(*)	30,8566	,000	-214,625	-92,615
		10-14 tahun	29,323	30,8566	,344	-31,683	90,328
	10-14 tahun	4 bln - 11 bln	-253,483(*)	31,6796	,000	-316,115	-190,851
		1-4 tahun	-182,943(*)	31,6796	,000	-245,575	-120,311
		5-9 tahun	-29,323	30,8566	,344	-90,328	31,683

* The mean difference is significant at the .05 level.

Oneway

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	kurang	78	19,092	12,4114	1,4053	16,294	21,891	3,4	63,4
	Baik	59	22,056	15,7480	2,0502	17,952	26,160	4,6	85,4

	Lebih	7	9,771	5,7037	2,1558	4,496	15,046	3,9	20,2
	Total	144	19,853	13,8633	1,1553	17,570	22,137	3,4	85,4
esat-6	kurang	78	64,318	21,6649	2,4531	59,433	69,203	11,8	99,8
	Baik	59	64,885	21,3294	2,7768	59,326	70,443	18,3	99,8
	Lebih	7	77,200	11,6273	4,3947	66,447	87,953	56,7	88,5
	Total	144	65,176	21,2237	1,7686	61,680	68,672	11,8	99,8
BCG	kurang	78	301,160	162,0572	18,3494	264,622	337,699	61,8	765,3
	Baik	59	355,083	177,9988	23,1735	308,696	401,470	82,7	719,7
	Lebih	7	285,600	110,3485	41,7078	183,545	387,655	182,3	438,2
	Total	144	322,497	168,0953	14,0079	294,808	350,187	61,8	765,3

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
kontrol	Between Groups	1042,923	2	521,462	2,781	,065
	Within Groups	26440,455	141	187,521		
	Total	27483,378	143			
esat-6	Between Groups	1074,469	2	537,234	1,196	,305
	Within Groups	63339,271	141	449,215		
	Total	64413,740	143			
BCG	Between Groups	107688,929	2	53844,465	1,930	,149
	Within Groups	3932924,310	141	27893,080		
	Total	4040613,239	143			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons LSD

Dependent Variable	(I) Status gizi	(J) Status gizi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	kurang	Baik	-2,964	2,3627	,212	-7,635	1,707
		Lebih	9,321	5,4030	,087	-1,361	20,002
	Baik	kurang	2,964	2,3627	,212	-1,707	7,635
		Lebih	12,285(*)	5,4742	,026	1,462	23,107
	Lebih	kurang	-9,321	5,4030	,087	-20,002	1,361
		Baik	-12,285(*)	5,4742	,026	-23,107	-1,462
esat-6	kurang	Baik	-,567	3,6569	,877	-7,796	6,663
		Lebih	-12,882	8,3626	,126	-29,414	3,650
	Baik	kurang	,567	3,6569	,877	-6,663	7,796

BCG	Lebih	Lebih	-12,315	8,4727	,148	-29,065	4,435
		kurang	12,882	8,3626	,126	-3,650	29,414
		Baik	12,315	8,4727	,148	-4,435	29,065
	kurang	Baik	-53,923	28,8161	,063	-110,890	3,045
		Lebih	15,560	65,8964	,814	-114,712	145,833
	Baik	kurang	53,923	28,8161	,063	-3,045	110,890
		Lebih	69,483	66,7644	,300	-62,506	201,472
	Lebih	kurang	-15,560	65,8964	,814	-145,833	114,712
		Baik	-69,483	66,7644	,300	-201,472	62,506

* The mean difference is significant at the .05 level.

Oneway

Descriptives									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	Posyandu	55	17,816	11,6090	1,5654	14,678	20,955	3,9	62,3
	Puskesmas	83	21,382	15,1223	1,6700	18,059	24,704	3,4	85,4
	RS	6	17,957	14,3614	5,4281	4,675	31,239	7,4	42,1
	Total	144	19,853	13,8633	1,1553	17,570	22,137	3,4	85,4
esat-6	Posyandu	55	64,998	22,6403	3,0528	58,878	71,119	11,8	99,8
	Puskesmas	83	64,195	19,8739	2,1947	59,828	68,562	18,3	99,8
	RS	6	78,071	24,1413	9,1246	55,744	100,398	45,2	99,8
	Total	144	65,176	21,2237	1,7686	61,680	68,672	11,8	99,8
BCG	Posyandu	55	348,847	182,3720	24,5910	299,545	398,149	92,6	715,3
	Puskesmas	83	306,820	161,5156	17,8364	271,331	342,308	61,8	765,3
	RS	6	299,114	107,5155	40,6370	199,679	398,550	135,4	483,6
	Total	144	322,497	168,0953	14,0079	294,808	350,187	61,8	765,3

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
kontrol	Between Groups	444,923	2	222,462	1,160	,316
	Within Groups	27038,455	141	191,762		
	Total	27483,378	143			
esat-6	Between Groups	1244,678	2	622,339	1,389	,253
	Within Groups	63169,062	141	448,008		
	Total	64413,740	143			
BCG	Between Groups	62170,044	2	31085,022	1,102	,335

Within Groups	3978443,194	141	28215,909		
Total	4040613,239	143			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons LSD

Dependent Variable	(I) Tempat vaksinasi	(J) Tempat vaksinasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
kontrol	Posyandu	Puskesmas	-3,565	2,4135	,142	-8,337	1,206
		RS	-,141	5,5571	,980	-11,127	10,845
	Puskesmas	Posyandu	3,565	2,4135	,142	-1,206	8,337
		RS	3,425	5,4528	,531	-7,355	14,204
	RS	Posyandu	,141	5,5571	,980	-10,845	11,127
		Puskesmas	-3,425	5,4528	,531	-14,204	7,355
esat-6	Posyandu	Puskesmas	,803	3,6891	,828	-6,490	8,096
		RS	-13,073	8,4939	,126	-29,865	3,719
	Puskesmas	Posyandu	-,803	3,6891	,828	-8,096	6,490
		RS	-13,876	8,3345	,098	-30,353	2,601
	RS	Posyandu	13,073	8,4939	,126	-3,719	29,865
		Puskesmas	13,876	8,3345	,098	-2,601	30,353
BCG	Posyandu	Puskesmas	42,028	29,2765	,153	-15,850	99,905
		RS	49,733	67,4082	,462	-83,528	182,994
	Puskesmas	Posyandu	-42,028	29,2765	,153	-99,905	15,850
		RS	7,705	66,1433	,907	-123,056	138,466
	RS	Posyandu	-49,733	67,4082	,462	-182,994	83,528
		Puskesmas	-7,705	66,1433	,907	-138,466	123,056

T-Test

Group Statistics					
	Jenis Kelamin	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kontrol	Laki-laki	68	18,515	13,3839	1,6230
	Perempuan	76	21,051	14,2599	1,6357
esat-6	Laki-laki	68	64,332	21,8201	2,6461
	Perempuan	76	65,932	20,7917	2,3850
BCG	Laki-laki	68	337,976	177,4744	21,5219

Perempuan	76	308,647	159,1407	18,2547
-----------	----	---------	----------	---------

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
kontrol	Equal variances assumed	1,769	,186	1,097	142	,275	-2,537	2,3125	-7,1080	2,0347
	Equal variances not assumed			1,101	141,665	,273	-2,537	2,3043	-7,0919	2,0187
esat-6	Equal variances assumed	,432	,512	-,450	142	,653	-1,599	3,5527	-8,6222	5,4237
	Equal variances not assumed			-,449	138,451	,654	-1,599	3,5623	-8,6427	5,4443
BCG	Equal variances assumed	,492	,484	1,046	142	,298	29,329	28,0501	-26,1206	84,7788
	Equal variances not assumed			1,039	135,452	,301	29,329	28,2210	-26,4818	85,1400

T-Test

Group Statistics					
	Vaksinasi	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kontrol	≤ 1 bulan	125	19,947	14,2914	1,2783
	> 1 bulan	19	19,237	10,9261	2,5066
esat-6	≤ 1 bulan	125	64,392	21,6304	1,9347
	> 1 bulan	19	70,337	17,9728	4,1232
BCG	≤ 1 bulan	125	314,455	160,8334	14,3854
	> 1 bulan	19	375,405	207,0678	47,5046

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
kontrol	Equal variances assumed	,722	,397	,207	142	,836	,710	3,4251	-6,0604	7,4812
	Equal variances not assumed			,252	28,301	,803	,710	2,8137	-5,0506	6,4713
esat-6	Equal variances assumed	2,513	,115	1,139	142	,257	-5,945	5,2206	-16,2650	4,3753
	Equal variances not assumed			1,305	26,611	,203	-5,945	4,5546	-15,2964	3,4067
BCG	Equal variances assumed	3,698	,056	1,479	142	,141	-60,950	41,2203	-142,4348	20,5346
	Equal variances not assumed			1,228	21,426	,233	-60,950	49,6349	-164,0466	42,1465

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	144	19,853	13,8633	1,1553	17,570	22,137	3,4	85,4
esat-6	144	65,176	21,2237	1,7686	61,680	68,672	11,8	99,8

BCG	144	322,497	168,0953	14,0079	294,808	350,187	61,8	765,3
Total	432	135,842	165,5046	7,9628	120,192	151,493	3,4	765,3

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7673348,038	2	3836674,019	398,289	,000
Within Groups	4132510,357	429	9632,891		
Total	11805858,395	431			

Post Hoc Tests

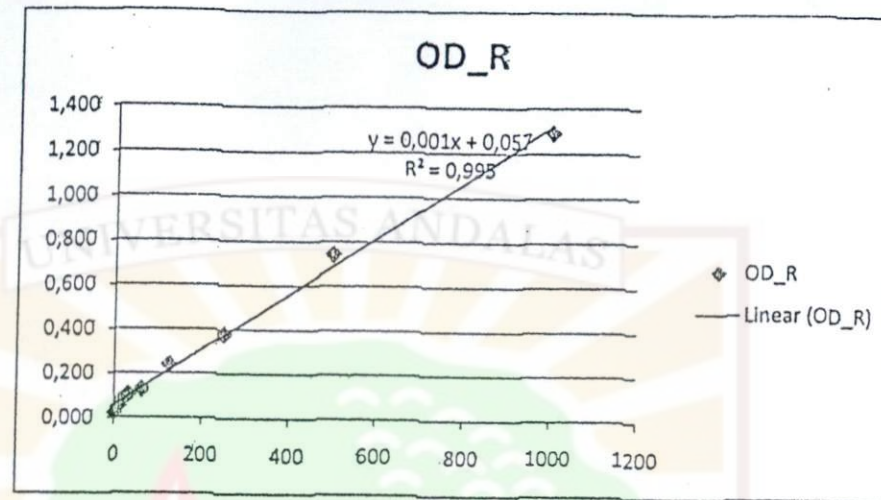
Multiple Comparisons
Dependent Variable: kontrol
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	esat-6	-45,323(*)	11,5668	,000	-68,058	-22,588
	BCG	-302,644(*)	11,5668	,000	-325,378	-279,909
esat-6	Kontrol	45,323(*)	11,5668	,000	22,588	68,058
	BCG	-257,321(*)	11,5668	,000	-280,055	-234,586
BCG	Kontrol	302,644(*)	11,5668	,000	279,909	325,378
	esat-6	257,321(*)	11,5668	,000	234,586	280,055

* The mean difference is significant at the .05 level.

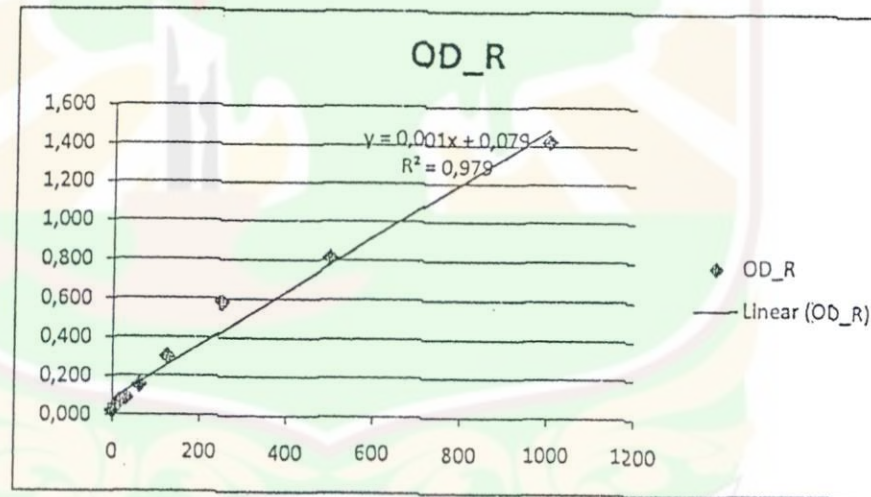
Kurva normal Plat 1

Kons	OD_R	OD1	OD2
1000	1,292	1,288	1,295
500	0,744	0,744	0,743
250	0,379	0,382	0,375
125	0,240	0,244	0,235
62,5	0,129	0,122	0,135
31,25	0,104	0,095	0,112
15,63	0,075	0,077	0,073
7,81	0,051	0,053	0,048
0	0,024	0,025	0,022

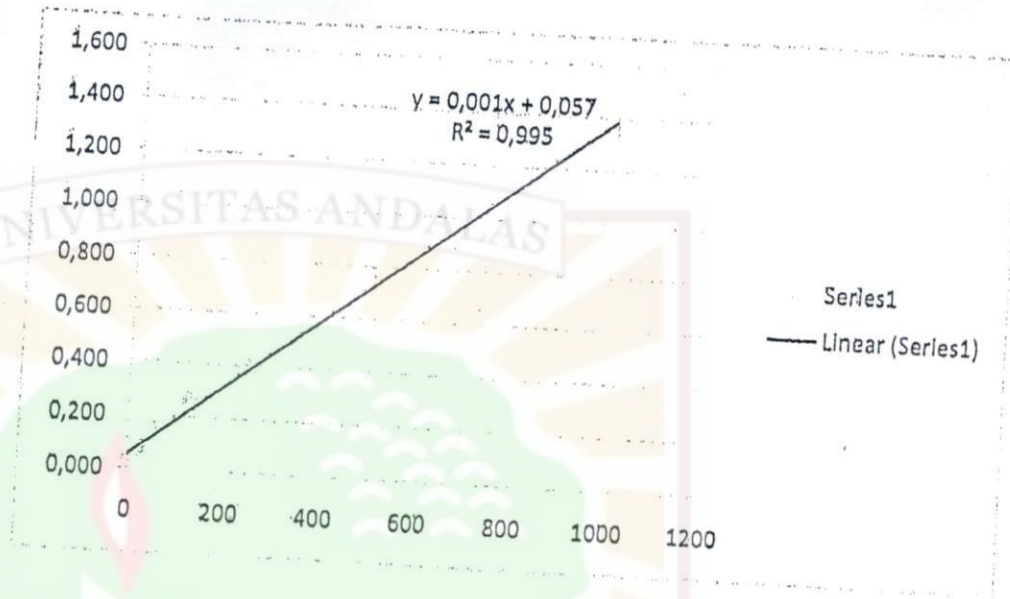


Kurva normal Plat 2

Kons	OD_R	OD1	OD2
1000	1,423	1,432	1,414
500	0,816	0,796	0,835
250	0,584	0,583	0,584
125	0,300	0,304	0,296
62,5	0,154	0,153	0,155
31,25	0,089	0,092	0,086
15,63	0,070	0,071	0,069
7,81	0,051	0,048	0,054
0	0,024	0,025	0,022

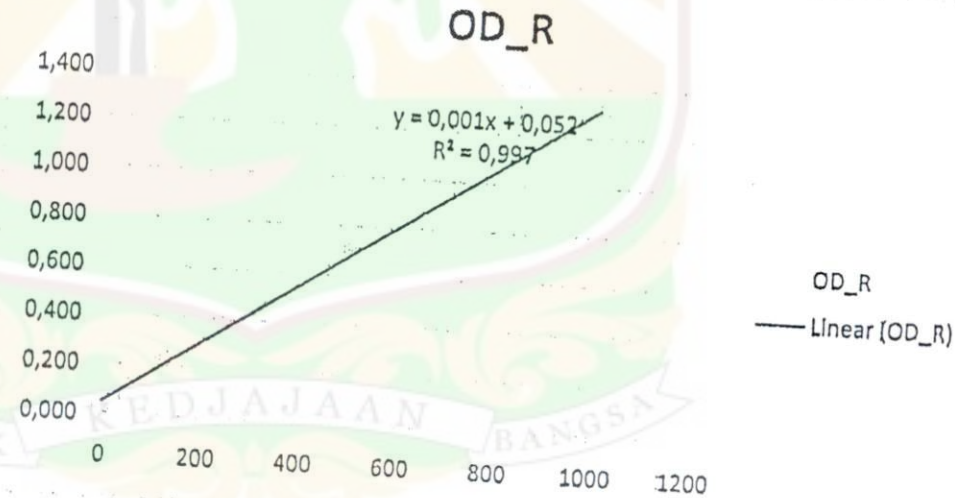


Kons	OD_R	OD1	OD2
1000	1,359	1,329	1,388
500	0,774	0,796	0,751
250	0,392	0,401	0,382
125	0,262	0,266	0,258
62,5	0,156	0,153	0,158
31,25	0,084	0,082	0,085
15,63	0,067	0,070	0,063
7,81	0,052	0,054	0,049
0	0,025	0,031	0,018

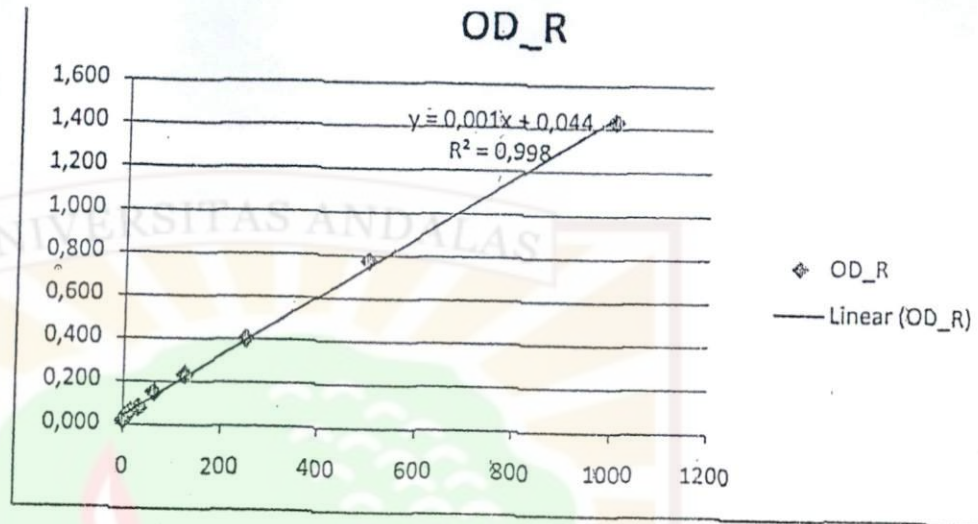


Kurva normal Plat 4

Kons	OD_R	OD1	OD2
1000	1,297	1,288	1,306
500	0,701	0,702	0,699
250	0,384	0,385	0,382
125	0,237	0,228	0,245
62,5	0,151	0,148	0,153
31,25	0,081	0,079	0,082
15,63	0,063	0,063	0,063
7,81	0,055	0,052	0,058
0	0,021	0,023	0,018

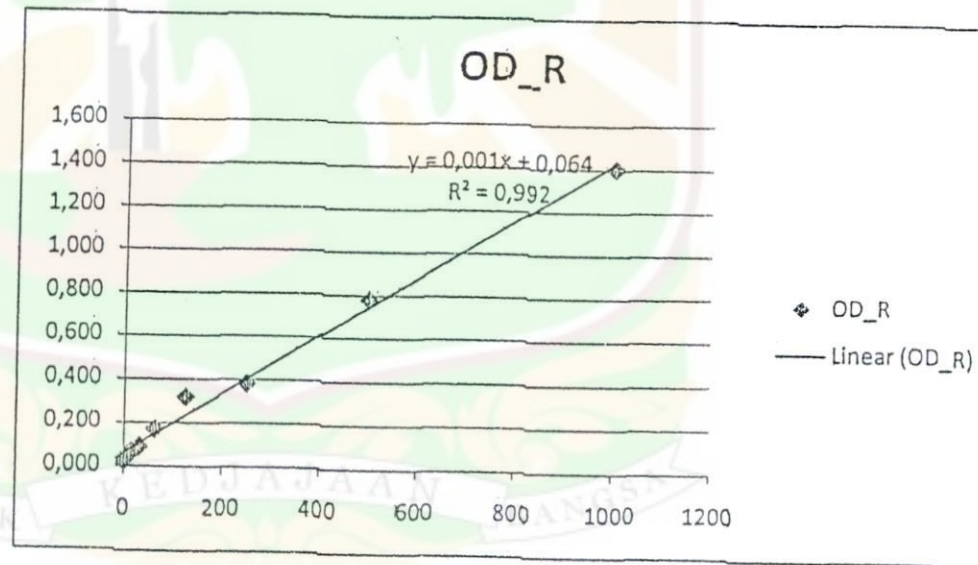


Kons	OD_R	OD1	OD2
1000	1,434	1,428	1,439
500	0,776	0,788	0,763
250	0,403	0,412	0,393
125	0,231	0,228	0,234
62,5	0,151	0,149	0,152
31,25	0,080	0,081	0,079
15,63	0,064	0,065	0,063
7,81	0,047	0,045	0,049
0	0,021	0,023	0,018

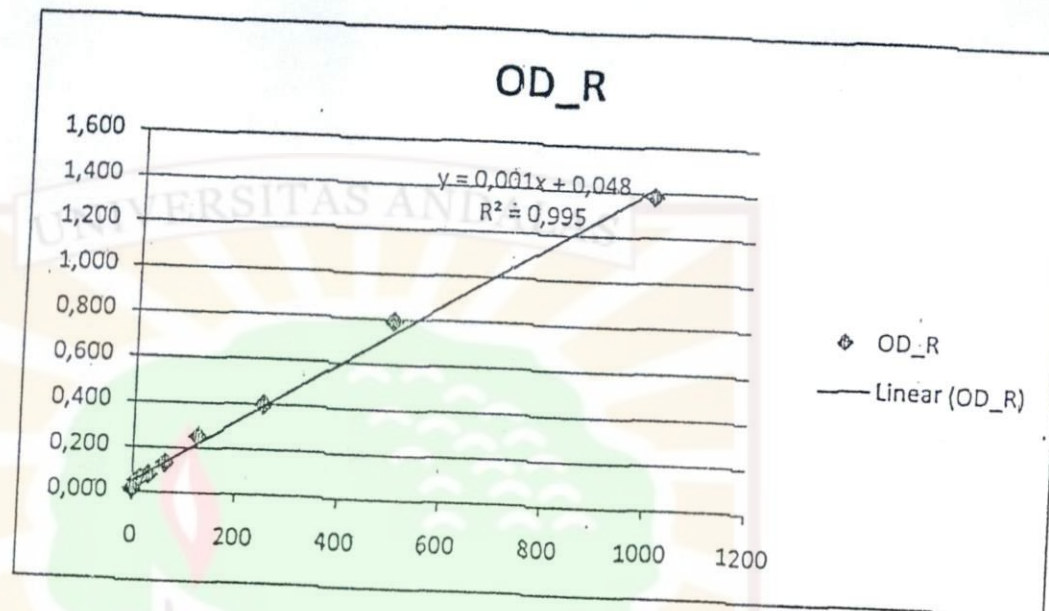


Kurva normal Plat 6

Kons	OD_R	OD1	OD2
1000	1,405	1,412	1,398
500	0,781	0,786	0,775
250	0,384	0,603	0,384
125	0,321	0,317	0,325
62,5	0,172	0,175	0,168
31,25	0,092	0,092	0,091
15,63	0,066	0,068	0,063
7,81	0,052	0,053	0,051
0	0,027	0,025	0,028



Kons	OD_R	OD1	OD2
1000	1,384	1,356	1,412
500	0,792	0,788	0,796
250	0,399	0,396	0,402
125	0,252	0,245	0,258
62,5	0,132	0,129	0,134
31,25	0,079	0,076	0,081
15,63	0,063	0,063	0,062
7,81	0,050	0,051	0,048
0	0,014	0,012	0,016



**Biomedical Laboratory
University of Andalas
Medical Faculty**

Jl. Perintis Kemerdekaan. PO.Box 49, Padang 25127
West Sumatera - Indonesia
Phone : +62 751 31746 Fax : +62 751 39844
e-mail : fkunand@pdg.vision.net.id



**Laboratorium Biomedik
Universitas Andalas
Fakultas Kedokteran**

Jl. Perintis Kemerdekaan. PO.Box 49, Padang 25127
Sumatera Barat - Indonesia
Phone : +62 751 31746 Fax : +62 751 39844
e-mail : fkunand@pdg.vision.net.id

SURAT KETERANGAN BEBAS LABORATORIUM

No: 056/H16.2/Lab.Biomedik/2013

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Prof.Dr.dr.Hj.Yanwirasti, PA
Jabatan : Ketua Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran
Universitas Andalas Padang

Menerangkan bahwa :

Nama : dr. Liza Fitria
Instansi : S2 Biomedik

Telah melakukan penelitian dengan judul **"Kadar Interferon Gamma Pada Anak Yang Mendapat Vaksin BCG"** dengan menggunakan metoda Elisa sesuai dengan sampel yang telah kami terima dan telah menyelesaikan semua administrasi terkait di Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.

Demikian surat keterangan ini saya buat dan dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Padang, 29 Mai 2013
Ketua Laboratorium Biomedik
Fakultas Kedokteran Unand

(Prof.Dr.dr.Hj.Yanwirasti.P.A)
NIP. 194309301973032001

